

**Tartu Ülikool**

**PeremeditSiini ja rahvatervishoiu instituut**

**I tüüpi diabeediga seotud  
autoantikehad, geneetilised ja keskkondlikud riskitegurid**

**Magistritöö rahvatervishoius**

**Hanna Sepp**

**Juhendajad: Raivo Uibo, MD, PhD, Tartu Ülikool, bio- ja siirdemeditSiini  
instituut, immunoloogia professor**

**Heti Pisarev, MSc, Tartu Ülikool, peremeditSiini ja  
rahvatervishoiu instituut, biostatistika assistent**

**Tartu 2019**

Magistritöö tehti Tartu Ülikooli peremeditsiini ja rahvatervishoiu instituudis ning bio- ja siirdemeditsiini instituudis.

Tartu Ülikooli rahvatervishoiu magistritööde kaitsmiskomisjon otsustas 21.05.2019 lubada väitekirja terviseteaduse magistrikraadi kaitsmisele.

Retsensent: prof Vallo Tillmann, MD, SA Tartu Ülikooli Kliinikumi Lastekliinik; juhataja, arstõppejõud endokrinoloog

Kaitsmine: 05.06.2019

# Sisukord

Sisukord.....	3
Kasutatud lühendid .....	4
Lühikokkuvõte.....	7
1. Sissejuhatus .....	9
2. Kirjanduse ülevaade .....	11
2.1 Diabeet .....	11
2.2 I tüüpi diabeet .....	12
2.2.1 T1D patogenees ja diagnostika.....	12
2.2.2 Autoantikehad.....	13
2.2.3 Riskitegurid .....	15
2.2.4 Epidemioloogia.....	18
3. Eesmärgid .....	21
4. Materjal ja meetodika.....	22
4.1 Valim .....	22
4.2 Andmekogumise meetodika .....	22
4.3 Töös kasutatud tunnused.....	23
4.4 Statistiline andmeanalüüs .....	25
4.5 Eetika .....	25
5. Tulemused .....	26
5.1 Juhtude ja kontrollide võrdlus.....	26
5.2 Juhtude võrdlus nooremas ja vanemas vanuserühmas.....	28
5.3 Nooremate ja vanemate juhtude geneetiliste ja keskkondlike riskitegurite võrdlus..	30
6. Arutelu.....	32
7. Järeldused .....	36
8. Kasutatud kirjandus .....	37
Summary .....	41
Tänuavaldus.....	43
Elulugu .....	44
Lisad .....	45
Lisa 1. Lapseeas diabeedihaike ankeet.....	45
Lisa 2. Täiskasvanud diabeedihaike ankeet.....	46
Lisa 3. Kontrollisikute ankeet .....	47

## Kasutatud lühendid

<b>AAK</b>	autoantikeha
<b>EV</b>	enteroviirus
<b>GAD65A</b>	glutamaadi dekarboksülaasi 65kDa isovormi vastane autoantikeha
<b>GTT</b>	glükoosi taluvuse test
<b>HbA1c</b>	glükohemoglobiin
<b>HLA</b>	inimese leukotsütaarne antigeen (ingl <i>human leucocyte antigene</i> )
<b>IAA</b>	insuliini vastane autoantikeha
<b>IA-2A</b>	proteiin-türosiini fosfataasi seoseline IA-2 molekuli vastane autoantikeha
<b>ICA</b>	saarekese rakkude vastane autoantikeha
<b>IgA</b>	immunoglobuliin A
<b>rpm</b>	rootori pööret minutis ( <i>rotations per minute</i> )
<b>ZnT8A</b>	tsingi transporter 8 vastane autoantikeha
<b>T1D</b>	esimest tüüpi diabeet
<b>T2D</b>	teist tüüpi diabeet
<b>WHO</b>	Maailma Terviseorganisatsioon (ingl <i>World Health Organization</i> )
<b>NK-rakk</b>	loomulik tappurrakk (ingl <i>natural killer cell</i> )

## Kasutatud mõisted

**$\beta$ -rakud** – Pankreases Langerhansi saarekestes paiknevad rakud, mille ülesandeks on vastusena vere glükoosi tasemele toota ja sekreteerida insuliini.

**Alleel** – Kromosoomi lookuses paiknev geenivariant.

**Autoimmuunsus** – Immuunreaktsioon organismiomase aine vastu.

**Autoantikeha** – Antikeha, mis reageerib organismile omase molekuli vastu.

**Antikeha** – Organismi veres või koevedelikus olev valk, mida sünteesitakse organismivõõra aine (antigeen) toimel ja mis seob seda.

**B-rakud** – Leukotsüütide klass, mille küpsemine toimub perifeerses veres. Nende roll on tagada antikeha-vahendatud ehk humoraalne immuunvastus, moodustavad plasmarakke, mille roll on toota antikehi.

**C-peptiid** – Molekul, mis eraldub verre Langerhansi saarekete poolt produtseeritud proinsuliini jagunemisel insuliiniks ja C-peptiidiks. Iseloomustab endogeense insuliini sekretsiooni võimet.

**Dendriitrakk** – Immuunsüsteemi rakk, mille peamiseks ülesandeks on antigeeni töötlemine ja esitamine T-rakkudele.

**Endokriinne haigus** – Haigus, mis on tingitud sisenõrenäärme/te funktsiooni häiretest.

**Etiopatogenees** – Haiguse põhjus või tekkemehhanism.

**Geen** – Kromosoomi kindlas punktis asuv pärilikkuse ühik ehk DNA segment, mis kodeerib mingit kindlat RNA-d ja selle kaudu valku.

**Gestatsiooni diabeet** – Süsivesikute ainevahetushäire, mis tekib raseduse ajal ning taandub pärast seda.

**Glükohemoglobiin** – Hemoglobiin A (HbA) koostisesse kuuluv alavorm. Selle hulk veres iseloomustab vereglükooisisaldust ja erütrotsüütide eluiga.

**Haplotüüp** – Tihedalt aheldunud geneetiliste elementide nt alleelide järjestus kromosoomis, mis pärandub ühtse üksusena.

**Homoloogne geen** – Sarnase nukleotiidses järjestusega geenid.

**Hüperglükeemia** – Normist kõrgem veresuhkrutase.

**Immunoglobuliin** – Antikeha (sümbol Ig).

**Inhibiitormolekul** – Molekul, mis takistab (pidurdab) keemilist reaktsiooni.

**Inimese leukotsütaarne antigeen** – Organismi antigeen, millega määratakse võõraste kudede eristamine organismi enda kudedest.

**Isovorm(id)** – Sarnase aminohappe järjestusega valgud

**Ketoatsidoos** (diabeetiline) – Seisund, mille korral keha lagundab insuliini puudusest tingituna rasvhappeid ja aminohappeid, sekreteerides seeläbi verre suurel hulgal ketokehasid.

**Ketokehad** – Rasvhapete laguprodukt, mille verre kuhjumisel võib tekkida eluohtlik seisund ketoatsidoos.

**Ketonuuria** (diabeetiline) – Seisund, mille korral keha lagundab insuliini puudusest tingituna rasvhappeid ja aminohappeid sekreteerides seeläbi uriini suurel hulgal ketokehasid.

**Langerhansi saarekesed** – Pankrease kude, mille roll on toota hormoone sh insuliini.

**Lookus** – Kindel koht kromosoomis, kus asub geen (üks tema alleelidest).

**Makrofaagid** – Leukotsüütide vorm, mille roll on nt kõrvaldada surnud koest rakkude jääke, mikroobe, kasvajakasv jne. Samuti stimuleerivad teisi immuunsüsteemi rakke patogeenide vastu.

**Molekulaarne mimikri** – Siin bakterite ja viiruste pinnamolekulide (antigeenid) sarnanemine peremeesorganismi rakkude molekulidega, mille tõttu toimuvad viimaste vastu samad immuunreaktsioonid.

**NK-rakud** – Leukotsüütide vorm, mille ülesandeks on hävitavad viirusinfitseeritud rakke ning kasvajakasv, kuna nende pinnal on spetsiaalsed pinnamarkerid.

**Peptiid** – Lühike 2–10 aminohappest koosnev järjestus.

**Polügeen** – Üks paljudest geenidest, mis osaleb avalduva tunnuse kujunemisel.

**Polümorfne geen** – Kahest või enamast geeni alleelsetest vormides esinev geen.

**Preeklampsia** – Rasedusaegne vererõhutõus, mille korral vabanevad uriini valgud.

**T-rakk** – Lümfotsüütide tüüp, mille lõplik diferentseerumine toimub tüümuses. T-lümfotsüüdid vastutavad T-rakkude vahendatud e rakulise immuunvastuse eest.

**Transmembraanne valk** – Rakumembraani läbiv valk.

**Tropism** – Ühe molekuli struktuur, mis on eelistatult sobivaim mingi kindla teise molekuli seondumiseks.

**Tsütoplasma** – Rakutuum ja rakumembraani vahele jääv veest ja selles lahustunud ainetest koosnev vedelik, kus asuvad kõik raku organellid v.a. tuum.

**Täiskasvanute autoimmuunne latentne diabeet** – Autoimmuunse diabeedi vorm, mille korral vaatamata saarekeste vastaste autoantikehade esinemisele kujuneb  $\beta$ -rakkude kahjustus välja aeglaselt.

Mõistete selgitused põhinevad valdavalt Heinaru poolt koostatud geneetika leksikonil ning käesoleva töö autori poolt kohandatud (1).

## Lühikokkuvõte

I tüüpi diabeedi (T1D – *type 1 diabetes*) põhjuseks on autoimmunprotsessidest tingitud püsiv pankrease koekahjustus ning sellest põhjustatud insuliini puudus. T1D avaldub enamasti enne 30ndat eluaastat ning on enam esinev just 10–14-aastaste hulgas. Viimastel aastatel on T1D avaldumus tõusnud kõigis vanuserühmades, seda eriti alla 5-aastaste hulgas.

Käesolev magistritöö koostati Eesti Teadusagentuuri IUT 20-43 raames läbiviidava teadusprojekti „Diabeedi immunmehhanismid“ andmete põhjal. Töö eesmärgiks oli kirjeldada ja võrrelda esmasdiagnoosiga T1D patsientide AAK spektrit, T1D-ga seotud HLA haplotüüpidel põhinevat riski ja enteroviiruste vastaste antikehade esinemist. Uuringus osales 480 isikut, kellest 209 olid diabeedihaiget ja 271 kontrollisikut. Uuritavad värvati ajavahe-  
mikul 1. oktoober 2004 a kuni 31. oktoober 2018 a. Diabeedihaigete rühma kuulusid esmase T1D diagnoosiga patsiendid, kes liitusid uuringuga kuni kahe kuu jooksul pärast diagnoosi saamist. Need haiget olid ravil SA Tartu Ülikooli Kliinikumi (SA TÜK) Sisekliinikus, SA TÜK Lastekliinikus, SA Põhja-Eesti Regionaalhaiglas, AS Ida-Tallinna Keskhaiglas, SA Tallinna Lastehaiglas, SA Kuressaare Haiglas. Kontrollisikute hulka kuulusid vabatahtlikud T1D diagnoosita uuritavad. T1D-seoselisi tunnuseid võrreldi esiteks juhtude ja kontrollrühma esindajate vahel ja teiseks nooremate (alla 19-aastaste) ja vanemate (19-aastaste ja vanemate) juhtude vahel. Andmeanalüüsi teostamiseks kasutati Mann-Whitney testi,  $\chi^2$ -testi või Fisheri täpset testi, šansside suhte arvutamiseks kasutati logistilist regressioonimudelit, mis juhtude ja kontrollide võrdlemisel kohandati soole ja vanusele. Andmeanalüüs viidi läbi statistika programmiga STATA/IC 14.2.

Lähisugulasel esineva T1D korral suurenes tõenäosus haigestuda T1D-sse 2,89 (95% CI 1,12–7,46) korda. Samal ajal oli T1D diagnoosiga isikutel suurem risk haigestuda nii endokriinsetesse (OR=13,02; 95% CI 2,83–59,79) kui mitteendokriinsetesse (OR=2,31; 95% CI 0,38–14,93) autoimmuunhaigustesse. Enteroviiruste antikehad esinesid juhtude hulgas 2,82 (95% CI 1,84–4,34) korda suurema tõenäosusega kui kontrollide hulgas.

Nooremate juhtude seas oli rohkem kõrgesse riskirühma kuuluvaid ehk HLA DR3/DR4 haplotüüpe kandvaid uuritavaid kui vanemate juhtude hulgas, olles mõlemas grupis vastavalt 33% ja 18%. Kõik AAK tüübid esinesid suurema tõenäosusega nooremate kui vanemate juhtude hulgas. Noorematel juhtudel esines 4,36 (95% CI 1,09–17,37) korda suurema tõenäosusega üks AAK, 12,86 (95% CI 3,41–48,49) korda suurema tõenäosusega 2 AAK ja 18,00 (95% CI 4,86–67,26) korda suurema tõenäosusega 3 AAK. Samuti esines nende hulgas suurema tõenäosusega rohkem kui ühe AAK osas positiivseid uuritavaid.

Kokkuvõttes saab öelda, et T1D, kui autoimmuunhaiguse esinemine, on seotud kõrgema riskiga haigestuda ka teistesse autoimmuunhaigustesse. Enteroviiruste infektsioonidel, kui keskkondlikul riskiteguril, on oluline roll T1D kujunemisel. Samuti on T1D tugevas seoses HLA DR3/DR4 haplotüüpidega. Mainitud teguritega on enim seotud noortel esinev T1D. Samal ajal on noorematel uuritavatel esinev T1D ka agressiivsema kuluga ehk neil on suurem tõenäosus ühe või mitme autoantikeha esinemisele. Samuti esinesid kõik autoantikeha tüübid suurema tõenäosusega noorematel kui vanematel juhtudel.



# 1. Sissejuhatus

Diabeediks (lad *diabetes mellitus*) nimetatakse ainevahetushäiret, mille kõige iseloomulikumaks tunnuseks on insuliini produktsiooni- või toimehäiretest tekkinud normist kõrgem veresuhkru tase (2). Peamiselt eristatakse kolme diabeedi vormi: I tüüpi diabeeti (*type 1 diabetes* – T1D), II tüüpi diabeeti (*type 2 diabetes* – T2D) ja gestatsioonidiabeeti (*gestational diabetes mellitus*) (3). Mainitustest enim ehk 90–95% kõigist diabeedi juhtudest moodustab T2D (2), levimuselt teisel kohal (~5% kõigist diabeedi juhtudest) on T1D. Sõltuvalt T1D kulust jagatakse see autoimmuunseks (~95% T1D juhtudest) ja idiopaatiliseks (5% T1D juhtudest) vastavalt sellele, kas haigus on tingitud autoimmuunsetest protsessidest või mitte (2).

T1D tekkepõhjus ei ole teada, kuid selle arengus on leitud seoseid autoantikehade (AAK), inimese leukotsütaarse antigeeni (*human leukocyte antigen* – HLA), enteroviiruste ja toitumisega. T1D-ga seostatakse peamiselt viite tüüpi AAK-sid: saarekese rakkude vastane autoantikeha (ICA), insuliini vastane autoantikeha (IAA), glutamaadi dekarboksülaasi 65kDa isovormi vastane autoantikeha (GAD65A), proteiin-türosiini fosfataasi seoseline IA-2 molekuli vastane autoantikeha (IA-2A) ja tsiingi transporter 8 vastane autoantikeha (ZnT8A) (4). Ehkki AAK-de roll haiguse tekkes pole täpselt teada, on leitud, et mida rohkem eritüüpi autoantikehasid uuritaval esineb, seda suurem on tõenäosus T1D väljakujunemiseks (5). Geneetilistest teguritest seostatakse T1D-d enim HLA riskialleelide DR4 ja DR3-ga (6), kusjuures T1D-ga isikutest 90% kannavad DR3 või DR4 allelele ja 30% mõlemaid allelele (7).

Keskkondlikest teguritest seostatakse T1D-d enim enteroviiruste (eelkõige B-grupi Cocksackie viiruse) poolt põhjustatud infektsioonide ja toitumisega (8). T1D-sse haigestumise riski suurendavad nii lapse enda kui ka ema poolt raseduseaegselt põetud infektsioonid (9–11). Toitumisega seostatakse T1D-d enim toidus sisalduvate võõrvalkude – näiteks piima- ja teraviljavalkudega (12–15).

Ehkki T1D esineb võrreldes T2D-ga oluliselt harvem, on sellel rahvatervishoiu seisukohast oluline roll. Seda eelkõige põhjusel, et haigus avaldub juba varases nooruki- või lapseas, sagedamini 10–14-aastaselt (16) ning selle kontrolli all hoidmiseks, hilisemate tüsistuste vältimiseks või nende tõsiduse vähendamiseks on esmatähtis igapäevane insuliinravi.

Valdkonna oluliseks kitsaskohaks on värsquete levimus- ja avaldumusandmete puudumine. Käesoleva töö autorile teadaolevalt avaldati viimane T1D avaldumuse teemaline artikkel 2010. aastal, mille kohaselt tõusis ajavahemikus 2000–2006 aastal T1D avaldumus 17,2-lt juhult 23,3 juhuni 100 000 elaniku kohta (17). Tervise Arengu Instituudi (TAI) tervisestatistika andmebaasi kohaselt oli T1D avaldumus 2016. aastal 43,0 juhtu 100 000 elaniku kohta. Samas võivad viimati mainitud andmed sisaldada topeltregistreeringuid (18).

Euroopas on T1D avaldumus kõrgeim Soomes (19–21), kus standarditud avaldumuskordaja oli 2004–2008 aastal 63,3 juhtu 100 000 elaniku kohta. Sama ajaperioodi madalaim avaldumuskordaja oli Makedoonias – 7,2 juhtu 100 000 elaniku kohta. Lisaks on täheldatud, et T1D avaldumus kasvab ülemaailmselt keskmiselt 3,9% aastas (19).

Olemasolevatest andmetest selgub, et T1D on järjest sagedamini esinev krooniline ravimatu haigus, mis haarab eelkõige nooremat elanikkonda. Sealjuures puudub nii Eestis kui ülemaailmselt selge ülevaade haiguse avaldumusest ja levimusest, samuti on ebaselged T1D tekke- ja arengumehhanismid. Magistritöö annaks panuse mainitud kitsaskohtade kõrvaldamiseks.

## 2. Kirjanduse ülevaade

### 2.1 Diabeet

Diabeet (lad *diabetes mellitus*) on glükoosi ainevahetushäire, mida iseloomustab kõrge veresuhkru tase – hüperglükeemia (2). Haigus on enamasti põhjustatud pankrease Langerhansi saarekestes paiknevate  $\beta$ -rakkude arvu või funktsiooni langusest ja/või toodetava insuliini toime nõrgenemisest (22).  $\beta$ -rakkude ülesandeks on vastusena vere glükoosi taseme tõusule toota insuliini, mis aitab glükoosi molekulidel imenduda rasva- ja lihasrakkudesse. Sõltuvalt etiopatogeneesist eristatakse erinevaid diabeedi vorme: I tüüpi diabeeti, II tüüpi diabeeti, gestatsioonidiabeeti (3). Lisaks eristatakse ka harvaesinevaid diabeedi erivorme, nagu noorte küpsuseas algav diabeet (*maturity-onset diabetes of the young*) (23) ja täiskasvanute autoimmuunne latentne diabeet (*LADA – latent autoimmune diabetes in adults*) (24) jt.

Kõige enam esineb T2D-d (umbes 90–95% kõigist diabeedi juhtudest), mis on üha enam tingitud ebatervislikest eluviisidest (2). Kui varasemalt on T2D olnud levinum pigem vanemaealiste ja ülekaaluliste seas, siis passiivsest elustiilist ja ebatervislikust toitumisest põhjustatuna on seda järjest enam diagnoositud ka lastel (25). Tegemist on multifaktoriaalse haigusega, milles olulist rolli omavad patsiendi toitumis- ja liikumisharjumused ning pärilikkus (25). Haigust iseloomustab insuliini resistentsus, mille tõttu peavad pankrease  $\beta$ -rakud üha rohkem insuliini tootma ning pidev ülekoormatus viib nende kahjustumiseni. Toitumist ja liikumisharjumusi muutes on  $\beta$ -rakkude ulatuslikku kahjustamist võimalik vältida ning haigus allub kontrollile ka insuliinravita (22). Vastasel juhul tuleb vere glükoosi sisalduse normaliseerimiseks manustada eksogeenset insuliini.

T1D-le on iseloomulikuks  $\beta$ -rakkude hävimine, millest põhjustatuna tekib patsiendil pidev insuliini puudus (26). Sõltuvalt  $\beta$ -rakkude hävimise põhjusest eristatakse peamiselt kahte T1D vormi – autoimmuunset ja idiopaatilist. Esimene neist on põhjustatud autoimmuunsetest protsessidest ning teise kulu- ja tekkemehhanism on tänasel päeval teadmata (2). Valdava osa ehk 95% T1D juhtudest on autoimmuunse kuluga (22).

## 2.2 I tüüpi diabeet

### 2.2.1 T1D patogenees ja diagnostika

Valdavalt peetakse T1D-d laste ning noorte täiskasvanute haiguseks, kuna tavaliselt ilmnevad esmased sümptomid enne 30ndat eluaastat, kõige sagedamini 10–14 aastaste hulgas (16). Haigusele on iseloomulik põletikurakkude (lümfotsüütide, makrofaagide, samuti dendriitrakkude ja NK-rakkude) infiltreerumine pankreasesse, põhjustades seal  $\beta$ -rakkude autoimmuunse kahjustuse (27).  $\beta$ -rakkude ulatusliku kahjustuse väljakujunemine võib olla varieeruv. Tavaliselt on see imikutel ja väikelastel ägeda kuluga, kujunedes lühikese aja jooksul absoluutseks insuliini puuduseks, mis omakorda avaldub ketoatsidoosina (2). Viimase puhul on insuliini puudusest ja kõrge veresuhkru tasemest tingitud rasvade lagundamisest vabanenud ketokehade kontsentratsioon veres ja uriinis liialt kõrge (28). Õigeaegse meditsiinilise sekkumisetä võib ketoatsidoos olla eluohtlik. Vastupidiselt lastele on täiskasvanute T1D tavaliselt vähem agressiivse kuluga. Funktsionaalsete  $\beta$ -rakkude hulk säilib neil aastaid piisaval tasemel ning ketoatsidoos ja insuliini manustamise vajadus kujuneb välja pikema aja jooksul (2).

Eestis lähtutakse diabeedi diagnoosimisel Maailma Terviseorganisatsiooni (*World Health Organization* – WHO) poolt 1991. aastal kehtestatud diabeedi diagnostika kriteeriumitest (27, 28), mille hulka kuulub neli aspekti: venoosse paastuplasma glükoosi sisaldus on  $\geq 7,0$  mmol/l; esinevad hüperglükeemia sümptomid ja plasmaglükoosi sisaldus on  $\geq 11,1$  mmol/l; glükoosi taluvuse testi (GTT) tulemus 2 h pärast 75 g glükoosi manustamist on  $\geq 11,1$  mmol/l; glükohemoglobiin (HbA1c) on  $\geq 48$  mmol/l ( $\geq 6,5\%$ ) (30). Seejuures puuduvad eraldi kriteeriumid eristamaks T1D-d ja T2D-d.

Üheks võimaluseks T1D ja T2D eristamiseks on seerumi C-peptiidi määramine. Füsioloogilistes tingimustes laguneb proinsuliin kaheks – C-peptiidiks ja insuliiniks. C-peptiidi vabaneb verre võrdses koguses insuliiniga, kajastades seega insuliini produktsiooni võimet. C-peptiidi referentsväärtus täiskasvanuil on 0,37–1,47 nmol/L, st C-peptiidi tase alla piirväärtuse on omane T1D-ga patsientidele ning üle selle iseloomulik T2D-ga patsientidele (31).

### 2.2.2 Autoantikehad

Haiguse tekkes osalevale autoimmuunmehhanismile viitavad T1D diagnoosiga patsientide verest määratavad autoantikehad (AAK). Viimased võivad tekkida aastaid enne sümptomite kujunemist, olles seega heaks prognostiliseks markeriks (26). Kuigi T1D puhuseid AAK-sid ei kasutata kliinilises praktikas haiguse diagnoosimiseks, on need siiski ühed esmased märgid kujunevast  $\beta$ -rakkude kahjustusest (12). Isikutel, kes on positiivsed ühe AAK osas, on tõenäosus haigestuda T1D-sse viie aasta jooksul 10%, kolme AAK osas positiivsetel kujuneb 90% tõenäosusega T1D välja kaheksa aasta jooksul (5). Samas leidub tervete kontrollide hulgas umbes 4% isikuid, kes on ühe, ning <1% isikuid, kes on kahe või enama AAK suhtes positiivsed, kuid kellel haigust välja ei kujune (32).

Peamiselt määratakse viit erinevat AAK-d. Nendeks on saarekese rakkude vastane autoantikeha (ICA), insuliini vastane autoantikeha (IAA), glutamaadi dekarboksülaasi 65kDa isovormi vastane autoantikeha (GAD65A), proteiin-türosiini fosfataasi seoseline IA-2 molekuli vastane autoantikeha (IA-2A) ja tsiingi transporter 8 vastane autoantikeha (ZnT8A) (4). Esmaste AAK-de tekke järgselt võib sümptomite avaldumiseni kuluv aeg olla väga varieeruv. Imikutel ning väikelastel on täheldatud agressiivsemat vormi, mille korral avalduvad esmased sümptomid juba mõne kuu möödudes, vanematel patsientidel võib prekliiniline periood kesta ka üle 20 aasta (33).

Seni pole saanud kinnitust fakt, et üks või teine AAK oleks primaarne T1D kulus, kuid märgatud on, et T1D diagnoosiga laste ja geneetilise eelsoodumusega isikutel on sagedamini esmaseks tuvastatavaks autoantikehaks IAA. Seevastu täiskasvanud patsientidel on rohkem levinud GAD65A (22). Eelkõige seostatakse T1D kulgu erinevat tüüpi AAK-de koos esinemisega. Bravis *et al* (34) uuringust ilmnes, et rohkem kui ühte tüüpi AAK-de esinemine on pigem iseloomulikum lapseas avaldunud T1D-le. Tõenäosus omada mitme AAK positiivset väärtust on vanemaealiste hulgas madalam (35).

#### Saarekese rakkude vastane autoantikeha

ICA on kõige esimesena avastatud T1D-ga seostatav AAK. Peamisteks ICA sihtantigeenideks on GAD, IA-2. Üldrahvastikus ning esimese astme sugulastega läbiviidud uuringute põhjal on järeldatud, et üksiku AAK-na on ICA prognostiline väärtus T1D tekkes madal, küll aga suureneb haiguse tekkerisk ICA ja GAD65A koosesinemisel (9, 29).

### **Glutamaadi dekarboksülaasi 65kDa isovormi vastane autoantikeha**

GAD65A antigeeniks on glutamaadi dekarboksülaas (36). Viimane esineb inimorganismis kahe isovormina – GAD65 ja GAD67 (37). GAD on ensüüm, millel on oluline roll kesknärvisüsteemi inhibiitori,  $\gamma$ -aminovõihappe (GABA) sünteesis. Nii GABA kui ka GAD ekspresseeruvad enim närvirakkudes, kuid GAD65 isovormi esineb ka väljaspool närvirakke, eeskätt pankrease  $\beta$ -rakkudes. Seetõttu omab GAD65 olulist rolli T1D väljakujunemisel (36).

GAD65A seostatakse eelkõige aeglase kuluga T1D-ga. Võrreldes teiste AAK-ga, esineb seda rohkem patsientidel, kellel on haigus avaldunud vanemas eas (34). Ühtlasi on GAD65A ka biomarker, mis on iseloomulik LADA-le (38).

### **Insuliini vastane autoantikeha**

IAA on AAK, mille antigeeniks on insuliin. Kui algselt arvati, et insuliinivastased antikehad reageerivad vaid eksogeense insuliini vastu, siis 1983. a kirjeldati Palmer *et al* (39) poolt läbi viidud uuringus, et 18% T1D diagnoosiga patsientidel, kes polnud saanud insuliinravi, olid seerumis insuliini vastased AAK-d. Küll aga tuleks valepositiivsete tulemuste vältimiseks arvestada, et IAA taset veres võib tõsta eksogeense insuliini manustamine.

IAA peetakse esmaseks tekkivaks AAK-ks lapseas avalduva T1D puhul. T1D-le geneetilise eelsoodumusega isikutel avaldub tihti lühikese aja jooksul positiivsus ka teiste AAK-de suhtes (32).

### **Proteiin-türosiin fosfataasi seoseline IA-2 molekuli vastane autoantikeha**

IA-2A antigeeniks on IA-2 (ICA512). Viimane on transmembraanne valk, mida leidub endokriinsete ja neuroendokriinsete kudede rakkudes. IA-2A võib reageerida nii IA-2 rakusisese kui -välise osaga, kusjuures molekuli rakuvälise osa vastu suunatud autoreaktiivsust seostatakse T1D agressiivsema kuluga (32). Peaaegu alati esineb IA-2A kombinatsioonis mõne teise AAK-ga. Euroopas ja USAs on alla 20-aastaste esmasdiagnoosiga T1D patsientide hulgas IA-2A levimus 60–80% ning üle 20-aastaste T1D patsientide hulgas 45%. Lisaks on IA-2A levinum nende hulgas, kes kuuluvad HLA haplotüüpide alusel riskirühma ehk kannavad HLA DR3 ja DR4 haplotüüpe (40).

### **Tsingi transporter 8 vastane autoantikeha – ZnT8A**

Seni teada olevatest T1D AAK-dest viimasena kirjeldati ZnT8A (41).  $\beta$ -rakkudes oleva suure tsingi sisalduse tõttu ekspresseeritakse neis mitmeid tsingi transporterimolekule, kõige enam ZnT8-t (42). ZnT8 asub sekretoorsetes insuliini graanulites ning selle peamiseks funktsiooniks on insuliini optimaalne säilitamine ja sekretsioon. T1D puhul vallanduvad T-raku ja ZnT8A

vahendatud autoreaktiivsed protsessid ZnT8 molekulide vastu (32). ZnT8A on oluline T1D diagnostiline marker, kuna on leitud, et ZnT8A avaldumine on sõltumatu teiste AAK-de esinemisest, vanusest ja HLA haplotüübist (43). Samas on osadest T1D dünaamikat hinnanud uuringutest selgunud, et ZnT8A tase langeb haiguse arenedes. Näiteks langes T1D-ga patsientide seerumis ZnT8A tase aastaga keskmiselt 320 U/ml-lt kuni 162 U/ml-ni, kusjuures 42% uuritavatel langes ZnT8A tase isegi alla määramispiirkonna (44).

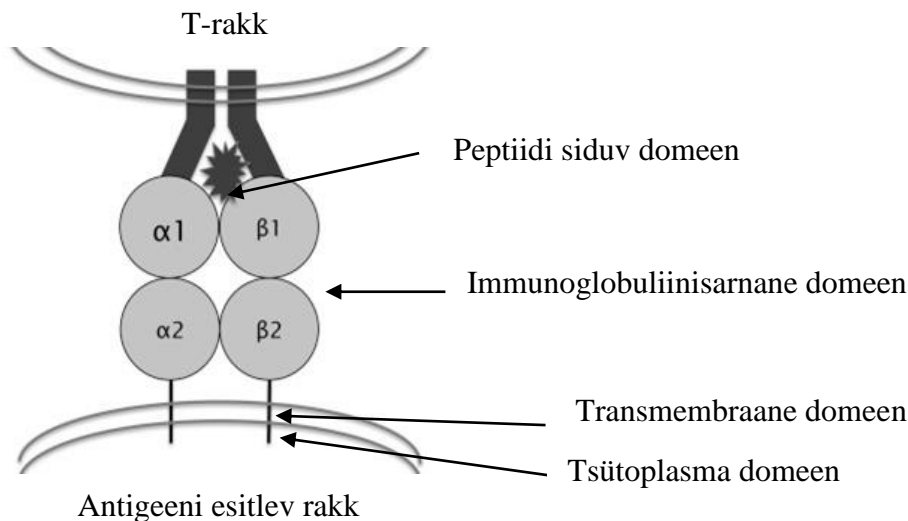
### **2.2.3 Riskitegurid**

Enamasti on T1D diagnoosimise hetkeks kahjustunud 70–90%  $\beta$ -rakkudest (45), mille tõttu pole patogeneesi vallandanud tegureid võimalik täpselt kindlaks teha. Tegemist on multifaktoriaalse haigusega, milles on oluline roll nii geenidel, peamiselt HLA geeniregioonil, kuid ka keskkonnamõjuritel – nt viirustel ja toitumisel (13). Erinevate autoimmuunhaiguste sarnaste riskitegurite tõttu on leitud, et T1D-ga isikutel on üldrahvastikuga võrreldes suurem tõenäosus haigestuda ka teistesse autoimmuunhaigustesse (46–48).

#### **Geneetiline eelsoodumus**

Tõendeid geneetilisest soodumusest annavad esimese astme sugulastega tehtud uuringud. Isikutel, kelle õdedel ja/või vendadel on diagnoositud T1D, on 15 korda suurem tõenäosus saada 30ndaks eluaastaks diabeet. Diabeedihaigetest vanemate lastel on haigestumise risk 3–6% suurem kui T1D diagnoosita vanemate lastel (49).

Geneetilistest teguritest enim, ~50% ulatuses, mõjutab T1D teket HLA, mille seost T1D esinemisega kirjeldati juba 1974. a Cudworth'i ja Woodrow'i poolt (50). HLA on kuuenda kromosoomi lühikeses õlas (6p21) paiknev 150-st geenist koosnev DNA järjestus, mida eristatakse klassidena I, II, III ja IV. Kõige enam seostatakse T1D-d HLA klass II-ga. Viimast ekspresseerivad oma pinnal antigeeni esitlevad rakud (dendriitrakud, makrofaagid, B-rakud) ehk rakud, mis töötlevad kehaväliseid antigeene ning esitlevad neid T-rakkudele. HLA molekul koosneb neljast domeenist – rakusisesest tsütoplasma domeenist, rakumembraani läbivast transmembraansest domeenist ning raku pinnale jäävast immunoglobuliinisarnasest domeenist ja peptiidi siduvast domeenist. HLA klass II peptiidi siduv domeen koosneb ühest  $\alpha$ - ja  $\beta$ -ahelast (6). HLA klass II molekuli struktuuri kajastab joonis 1.



**Joonis 1.** HLA klass II struktuur. Joonisel on kujutatud antigeeni esitlevat rakku, mis HLA klass II molekuli vahendusel esitleb antigeeni T-rakule. Allikas: Noble, 2015. aastal avaldatud artiklist ning on käesoleva töö autori poolt kohandatud (7).

Kui enamus organismi valke on kodeeritud kindla geeni poolt, siis HLA geenid on polügeensed ehk mitu geeni osaleb korraga ühe valguprodukti sünteesis. HLA klass II geenid asuvad HLA-DR, HLA-DQ ja HLA-DP lookustes.  $\alpha$ -ahelat sünteesitakse nendes lookustes asuvate HLA-DRA, -DQA ja -DPA poolt ja  $\beta$ -ahelat HLA-DRB, -DQB, -DPB poolt. Sõltuvalt inimesest võib DRB geene olla kuni üheksa (DQ1–DQ9), DQA geene kaks (DQA1 ja DQA2) ja DQB geene kolm (DQB1–DQB3). Lisaks on HLA geenid kõrge polümorfsusega ehk geenide järjestus HLA piirkonnas on indiviiditi erinev (6).

T1D-ga seotud riskilookusteks peetakse DR ja DQ lookuseid (7, 9, 45). Samas on oluline silmas pidada, et lookused on tugevas aheldatuses ning tihti tuleb lookuste DQ ja DR mõju vaadelda koos (7, 9). Kõrgeima riskiga haplotüüp on DQA1\*03:01–DQB1\*03:02. Risk suureneb DRB1 alleelide \*04:05, \*04:01 ja \*04:02 lisandumisel (nimetatakse ka DR4 haplotüübiks). Teine kõrge riskiga haplotüüp on DRB1\*03:01–DQA1\*05:01–DQB1\*02:01 (nimetatakse ka DR3 haplotüübiks) (6). T1D-ga isikutest 90% kannavad DR4 või DR3 ja 30% mõlemaid allelele (7). Samal ajal esineb rahvastikus kaitsvate HLA haplotüüpide kandjaid. T1D suhtes kaitsva funktsiooniga on HLA-DQB1\*06:02 (nimetatakse ka DRX haplotüübiks) (7, 46), mis on seotud DRB1\*15:01, DQA1\*01:02 ja DQA1\*01:02 alleelidega (7). Tervete valge rassi esindajate hulgas on DQB1\*06:02 levimus 20%, T1D isikute hulgas aga ainult 1% (7).



### **Keskkondlikud riskitegurid**

Keskkondlikest riskiteguritest on olulisi seoseid leitud nii lapseea toitumisega kui ka läbipõetud viirushaigustega (9–11). Erinevad uuringud on näidanud, et õdedel ja/või vendadel, kellel on diagnoositud T1D, on ühtlasi sagedasem enteroviiruste antikehade leid. Samuti on leitud, et lastel, kelle emad on raseduse ajal põdenud enteroviiruste infektsiooni, kujuneb suurema tõenäosusega elu jooksul T1D. Enim on enteroviirustest seostatud T1D-ga B-grupi Cocksackie viirust, aga ka rotaviirust, mumpsiviirust, tsütomegaloviirust ja rubellaviirust (8). Enteroviiruste roll haiguse kujunemisel võib olla erinev.

On täheldatud, et teatud enteroviirustel esineb pankrease spetsiifiline tropism ehk viirusele on omane molekulaarne struktuur, mis eelistatult seostub pankrease koes olevatele retseptoritele, kahjustades kude, kas otseselt või läbi indutseeritud põletikuliste reaktsioonide (11). Kirjeldatud on ka molekulaarse mimikri esinemist ehk viiruse antigeeni molekulaarne struktuur on homoloogne peremeesorganismi valgule, näiteks pankrease saarekese autoantigeeni GAD65 isovormile. Immuunvastuse käigus enteroviiruste antigeenide vastu tekkinud antikehad reageerivad autoreaktiivselt pankrease koes oleva GAD65-ga (13).

Lisaks on leitud, et T1D kujunemisele avaldab olulist rolli lapseea toitumine. Nimelt 1390 eelkoolialise lapsega läbi viidud juht-kontrolluuringust selgus, et toites last rinnapiimaga esimesel viiel elukuul või kauem, avaldub selle kaitsev mõju T1D kujunemisele. Rinnapiima kaitsvat efekti selgitatakse selles sisalduvate antiinfektsioosete ainetega ning rinnapiima tarbides lükatakse edasi teist tüüpi piimade ning nendes sisalduvate võõrvalkude manustamine (12, 13, 27).

Loomkatsed ja patsientide uuringud on näidanud seoseid gluteeni ja T1D vahel (14, 15). Prospektiivses kohortuuringus BABYDIAB haigestusid T1D-sse kõik enne kolmandat elukuud gluteeni sisaldavaid toite saanud lapsed, kelle vanematel oli diagnoositud T1D ning kellel olid HLA-DR3/DR4 haplotüübid. Arvatakse, et gluteen vallandab imikute seedetraktis põletikulise reaktsiooni, mis põhjustab muutusi nende veel täielikult välja arenemata pankrease saarekeste  $\beta$ -rakkudes.

### **Kaasuvad autoimmuunhaigused**

Uuringud on tõestanud, et T1D-ga uuritavatel on suurem risk ka teiste autoimmuunhaiguste arenguks. Eelkõige seetõttu, et mitmetel autoimmuunhaigustel on ühised riskitegurid. Näiteks sarnaselt T1D-ga on paljude autoimmuunhaiguste riskiteguriks HLA haplotüüpide DR3 ja DR4 esinemine (48). Seoseid on leitud ka keskkondlike riskiteguritega, nagu näiteks teraviljavalgudega (47). Samuti võivad T1D korral pankreases toimuvatel autoreaktiivsetel protsessidel

olla mõju teistele organismi piirkondadele, vallandades nii organspetsiifilisi kui mitteorgan-spetsiifilisi autoimmuunhaiguseid. Kõige sagedamini esineb T1D koos selliste haigustega nagu: autoimmuunne türeoidiit (15–30% T1D-ga patsientidest, 2–4 korda sagedamini, kui üldrahvas-tikust), tsöliaakia (0,6–16% T1D-ga patsientidest, kuni 20 korda sagedamini kui üldrahvas-tikus), autoimmuunne gastriit ehk pernitsioosne aneemia (5–10% T1D-ga patsientidest, levimus üldrahvastikus 0,3–2%) ja vitiliigo (2–10% T1D-ga patsientidest, levimus üldrahvastikus 0,5%–1%) (47).

## **2.2.4 Epidemioloogia**

Tänapäeval on Eesti andmetel põhinevate värskete T1D avaldumus- ja levimusandmete kättesaadavus puudulik. Autorile teadaolevalt avaldati viimane Eesti T1D avaldumusandmeid analüüsiv artikkel Teeääre ja kolleegide poolt 2010. aastal. Sellest selgus, et T1D standarditud avaldumuskordaja tõusis ajavahemikul 2000–2006 17,2 juhult 23,3 juhuni 100 000 elaniku kohta (17). Tuginedes Tervise Arengu Instituudi tervisestatistika andmebaasile oli insuliinsõltuva diabeedi haigestumus 2016. aastal 43,0 juhtu 100 000 elaniku kohta. Jaotudes vanuserühmades 1–4, 5–9, 10–14, 15–19, 20–24 ja 25–34 aastat vastavalt 10,7, 41,7, 44,3, 38,5, 40,0 ja 39,5 juhtu 100 000 elaniku kohta. Küll aga tuleb silmas pidada, et mainitud andmebaasi andmed põhinevad tervishoiuteenuse osutaja poolt esitatud aruannetel ning ei ole isikupõhised (18). Seega võivad need sisaldada topeltregistreeringuid ning andmed ei pruugi olla piisavalt kvaliteetsed andmaks korrektset ülevaadet T1D levimuse kohta Eestis. Värskete ja kvaliteetsete andmete puudumine võib oluliselt pärssida T1D-st tingitud haiguskoormuse tõsiduse mõistmist ning seetõttu ka sekkumismeetmete väljatöötamist.

Viimastel aastatel on märgata ülemaailmset T1D avaldumuse kasvu (19, 47, 48). Keskmiselt suureneb haiguse avaldumus aastaga 3,9%. Esmashaigestunute osakaalu tõus vanuseklassides 0–4, 5–9 ja 10–14 aastat on vastavalt 5,4%, 4,3% ja 2,9%. Seega on esmas-haigestunute osakaalu tõus suurim alla 5-aastaste hulgas (19).

Ajavahemikul 1989–2013 viidi läbi kaks suuremahulist T1D epidemioloogilist uuringut – EURODIAB (uuringu periood 1989–2013) (21), DiaMond (uuringu periood 1990–1993) (52) (tabel 1). Nimetatutest esimeses uuringus analüüsiti 26 Euroopa keskuse andmeid (perioodist 1989–2013) ja DiaMond projektis analüüsiti andmeid 100-st keskusest 50-st riigist üle maa-ilma. Uuringute tulemused näitasid, et T1D avaldumus võib piirkonniti erineda mitmekordselt. EURODIAB uuringu kohaselt on avaldumuskordaja kõrgeim Soomes, tõustes perioodil 1989–2008 38,2 juhult kuni 63,3 juhuni 100 000 elaniku kohta. DiaMond uuringu põhjal oli perioodil

1990–1993 avaldumuskordaja kõrgeim Sardiinias – 36,8 juhtu 100 000 elaniku kohta ja Soomes – 36,5 juhtu 100 000 elaniku kohta. Samal ajal madalaima avaldumuskordajaga riik on EURODIAB andmeil Makedooni, kus T1D avaldumuskordaja tõusis uuringu perioodi jooksul 3,2 juhult 7,2 juhuni 100 000 elaniku kohta. Madalaim T1D avaldumus DiaMond andmeil oli Hiinas ja Venezuelas – mõlemas riigis 0,1 juhtu 100 000 inimese kohta. Avaldumuskordajate suuri erinevusi nii Euroopas kui ülemaailmselt võiks selgitada keskkondlike ja geneetiliste riskitegurite koosmõjuga. T1D ja keskkonna tingimuste vahelist seost tõestab Rootsist läbiviidud uuring, kus võrreldi T1D levimust kuni 14-aastaste Rootsist pärit laste hulgas, madala T1D levimusega riigist pärit 1. põlvkonna immigrantide ja 2. põlvkonna immigrantide seas. Uuringust selgus, et 1. põlvkonna immigrantide laste hulgas oli T1D avaldumuskordajate suhe 40% madalam ja 2. põlvkonna immigrantidel 25% madalam kui Rootsist pärit lastel (53). Uuringu autorid selgitasid avaldumuskordajate tõusu geneetiliste ja keskkonnast tingitud riskitegurite koosmõju läbi. Nad näitasid, et mõjuteguriteks võivad olla rasedusaegsed viirusinfektsioonid, preeklampsia, hilisem sünnitusiga, samuti suurenenud loote kasvuiive ja sünnikaal, keisrilõige, elustiili muutus ja varajane kokkupuude lehmapiimas sisalduvate valkudega.

T1D levimuse erinevusi on märgata ka etniliste rühmade lõikes. Uuringust, mis võrdles T1D avaldumuskordajaid mitte-hispaanlastest valge rassi esindajate, hispaanlaste, afro-ameeriklaste, asiaatide, Vaikse Ookeani saarte elanike (ingl *Pacific Islander*) ning navajo indiaanlaste vahel, selgus, et T1D avaldumus oli suurim mitte-hispaanlastest valge rassi esindajate seas ja madalaim avaldumuskordaja navajo indiaanlaste hulgas (54).

Lisaks päritolule mõjutab T1D levimust ja patsientide elulemust nende sotsiaalmajanduslik staatus. Madalama haridustaseme ja palgaga isikute hulgas on suurem T1D haigestumus ning suremus. On tendents, et madalama sissetulekuga isikutel esineb sagedamini T1D tüsistusi (55). Põhjuseks võib olla, et madalama sissetulekuga isikutel ei pruugi olla piisavalt raha regulaarseks insuliini manustamiseks, samuti võivad mõjutada halvemad sanitaartingimused ja hügieen, mitmed psühhosotsiaalsed tegurid jm.

**Tabel 1.** Kõrgeima ja madalaima T1D levimusega riigid uuringute EURODIAB (21) ja DiaMond (52) põhjal

Uuring	Periood	Piirkond	Madalaima avaldumuskordajaga riik	Madalaim avaldumuskordaja 100 000 in kohta	Kõrgeima avaldumuskordajaga riik	Kõrgeim avaldumuskordaja 100 000 in kohta
EURODIAB*	1989–1993	26 Euroopa keskust	Makedoonia	3,2	Soome	38,2
	1994–1998		Makedoonia	3,9	Soome	46,7
	1999–2003		Makedoonia	6,0	Soome	54,5
	2004–2008		Makedoonia	7,2	Soome	63,3
DiaMond**	1990–1994	100 keskust üle maailma	(1) Hiina;	(1) 0,1;	(1) Sardiinia;	(1) 36,8;
			(2) Venezuela	(2) 0,1	(2) Soome	(2) 36,5

\*standarditud vanusele ja soole; \*\*standarditud vanusele

### 3. Eesmärgid

Käesoleva magistritöö eesmärgiks oli kirjeldada ja võrrelda esmasdiagnoosiga T1D patsientide AAK spektrit, T1D-ga seotud HLA haplotüüpidel põhinevat riski ja enteroviiruste vastaste antikehade esinemist Diabeedi immuunmehhanismide uuringus osalenud uuritavate vahel. Töö alaeesmärkideks oli:

1) võrrelda juhtudel ja kontrollidel esinevaid kaasuvaid haigusi ja enteroviiruste antikehasid;

2) võrrelda HLA haplotüüpide ja autoantikehade jaotust diabeedihaigete nooremas (<19-aastased) ja vanemas ( $\geq 19$  aastased) vanuserühmas.

## **4. Materjal ja metoodika**

### **4.1 Valim**

Antud magistritöö põhineb TÜ bio- ja siirdemeditiini instituudi immunoloogia osakonnas aastatel 2004–2018 tehtud uuringu „Diabeedi immuunmehhanismid“ andmetel.

Valimi moodustasid 480 uuritavat – 209 diabeedihaiget ja 271 kontrollisikut. Andmeid koguti 1. oktoobrist 2004 kuni 31. oktoobrini 2018.

Diabeedihaigete rühma kuulusid vabatahtlikud esmase T1D diagnoosiga uuritavad SA Tartu Ülikooli Kliinikumi (SA TÜK) Sisekliinikust, SA TÜK Lastekliinikust, SA Põhja-Eesti Regionaalhaiglast, AS Ida-Tallinna Keskhaiglast, SA Tallinna Lastehaiglast, SA Kuressaare Haiglast. Haiged võeti uuringusse kahe kuu jooksul pärast diagnoosi saamist, vältimaks insuliini pikaajast manustamisest tingitud uuringu tulemuste kallutatust. Kontrollrühm moodustati mugavusvalimina vabatahtlikest ilma T1D diagnoosita uuritavatest. Nende hulka kuulusid TÜ töötajad ja tudengid ning patsiendid, kes viibisid SA TÜK Lastekirurgia osakonnas mikrokirurgiliste lõikuste tõttu.

### **4.2 Andmekogumise metoodika**

Käesoleva töö andmete kogum koostati TÜ bio- ja siirdemeditiini instituudi immunoloogia osakonnas ankeetküsitluste (lisa 1, lisa 2, lisa 3) ja laboratoorsete analüüside tulemuste põhjal. Alates 2017. aastast liitus uuringu töögruppi ka käesoleva töö autor ning teostas osad labori analüüsides. Ankeedid täideti diabeedihaigetega tegelenud raviarstide poolt või kontrollisikutel TÜ bio- ja siirdemeditiini instituudi immunoloogia osakonna teadurite poolt. Laboratoorseteks analüüsideks koguti uuritavalt 4 ml veeniverd EDTA lisandiga katsutisse ja 4 ml veeniverd hüübimisaktivaatoriga katsutisse. EDTA lisandiga materjalist tehti 2x 125 µl täisvere kogusega vereplekid, mida säilitati +4 °C juures. Vereplekke kasutati hiljem HLA genotüüpiseerimiseks. Kontrollisikute EDTA lisandiga verest eraldati 500 µl verd, mis saadeti SA TÜK Ühendlaborisse, kus määrati sellest glükohemoglobiini (HbA1c) tase. Diabeedihaigete HbA1c andmed saadi diagnoosi kinnitanud raviarstilt.

Hüübimisaktivaatoriga katsutis olev veeniveri tsentrifuugiti kiirusel 2000 rpm 15 minutit. Seejärel jaotati seerum 500 µl kaupa katsutitesse ning need külmutati -80° C juures. Kontrollisikute seerumist määrati SA TÜK Ühendlaboris C-peptiidi tase. Diabeedihaigete C-peptiidi taseme andmed saadi diagnoosi määranud raviarstilt. Nii diabeedihaigete kui

kontrollisikute seerumist määrati TÜ bio- ja siirdemeditiini instituudi immunoloogia laboris enteroviiruste vastased IgA antikehad ja T1D puhused autoantikehad – GAD<sub>65</sub>, IA-2A, ZnT8, kasutades selleks ELISA meetodit.

Enteroviiruste vastased IgA antikehad (56) määras Ija Talja ja T1D AAK (36) määras Kaja Metsküla TÜ bio- ja siirdemeditiini instituudi immunoloogia laboris. HLA genotüpiseerimine (51) tehti Turu Ülikoolis professor Jorma Iloneni juures immunogeneetika laboris (*Institute of Biomedicine, Department of Medical Microbiology and Immunology, Immunogenetics Laboratory University of Turku*). Andmete esialgse kvaliteedikontrolli ja süstematiseerimisega tegeles TÜ bio- ja siirdemeditiini instituudi immunoloogia laboris Maire Mandel. Antud töö jaoks vajaliku andmete puhastamise ja andmete statistilise analüüsi viis läbi käesoleva töö autor.

### **4.3 Töös kasutatud tunnused**

#### **Sõltuvad tunnused**

Sõltuvalt võrdluse eesmärgist kasutati kahte erinevat kaheväärtuselist sõltuvat tunnust – T1D diagnoos (juht vs. kontroll) või vanusrühm uuringusse värbamise hetkel (<19-aastane vs. ≥19-aastane). Esimesel juhul analüüsiti erinevusi diabeedihaigete ja kontrollisikute vahel. Teisel juhul iseloomustati T1D grupi siseselt noorematel ja vanematel juhtudel T1D-ga seotud erinevusi.

#### **Kirjeldavad tunnused**

##### **Patsiendi/uuritava andmed**

Uuringusse kaasamise kuupäev – uurimisrühma esitatud kuupäev, kuu ja aasta.

Vanus – arvutati uuritava isiku isikukoodi põhjal. Uuringus kasutati vanust nii pideva kui järjestustunnusena (uuritavad jagati vanuse alusel kahte rühma: <19-aastased ja ≥19-aastased).

Sugu – tuletati uuritava isikukoodi esimese numbri põhjal.

Elukoht – eneseraporteeritud elukoha alusel moodustati kaks rühma – need, kes elasid Tartumaal ja mujal Eestis.

Lähisugulastel esinev T1D – eneseraporteeritud, kõigi lähisugulaste (ema, isa, õe, venna, lapse) T1D staatuse kohta käivad andmed, mille alusel jagati uuritavad kahte rühma: esiteks need, kelle lähisugulastel polnud ühelgi T1D, teiseks need, kelle lähisugulaste hulgas oli vähemalt ühel T1D.

## **T1D anamneesi andmed**

Diagnoosimise kuupäev – diagnoosi määranud arsti esitatud kuupäev, kuu ja aasta.

Diagnoosimise ja uuringusse saabumise aja vahe – väljendatakse päevades ja on arvutatud lahutades uuringusse saabumise kuupäevast diagnoosimise kuupäev. Isikud, kellel oli antud tunnus enam kui kaks kuud, jäeti uuringust välja, et välistada insuliini ravil olevate isikute sattumist valmisse.

Sümptomite kestus – diagnoosimise hetke seisuga, eneseraporteeritud, moodustati järjestustunnus sümptomite kestuse alusel neist, kellel diagnoosi saamise hetkeks sümptomid puudusid, kellel esinesid sümptomid  $0 \dots \leq 1$  kuud,  $>1 \dots \leq 2$  kuud,  $>2 \dots \leq 3$  kuud ja  $>3$  kuud. Sümptomite all mõisteti diabeedile iseloomulikke sümptomeid: suurenenud urineerimist, suurenenud janu, kehakaalu langust, ketoosi (30).

Ketонуuria/ketoatsidoos – diagnoosi määranud arsti raporteeritud. Moodustati binaarne tunnus esiteks neist, kellel ei esinenud ketoatsidoosi ega ketонуuriat ja teiseks neist, kellel esines vähemalt üks mainitud seisunditest.

C-peptiid paastuseerumis – esitas diabeedihaigete puhul diagnoosi määranud arst, kontrollisikute puhul uurimisrühm. Mõlemal juhul lähtuti laboratoorsetest vastustest, tulemus märgiti nmol/l täpsusega. C-peptiid on näitaja, mis väljendab, mil määral on pankreas võimeline insuliini tootma. T1D diagnoosiga patsientidel jääb näitaja referentsväärtuse ( $0,27\text{--}1,47$  nmol/L) alumisele piirile või allapoolegi, T2D-ga patsientidele on iseloomulik referentsväärtusest kõrgem C-peptiidi tase (31).

Glükohemoglobiin – HbA1c (%) – diabeedihaigete puhul esitas diagnoosi määranud arst, kontrollisikute puhul uurimisrühm. Mõlemal juhul lähtuti laboratoorsetest vastustest, väljendati protsendi täpsusega ehk kui suure hulga HbA1-st moodustab HbA1c. HbA1c-ga väljendatakse uuritavate viimase 2–3 kuu veresuhkru taset. Endogeense insuliini ebapiisava taseme tõttu on HbA1c väärtus patsientidel, kellel pole insuliinravi rakendatud, oluliselt kõrgem insuliinravi eesmärkväärtusest ( $\geq 6,5$  %).

Enteroviiruste IgA antikehad – määrati immunoloogia osakonna uurimisrühma poolt. Väljendati binaarse tunnusena, sõltuvalt, kas uuritav oli enteroviiruste vastase IgA antikeha osas positiivne või negatiivne.

T1D-le iseloomulikud AAK-d – määrati immunoloogia osakonna uurimisrühma poolt. Väljendati erinevate tunnustena. Esiteks kõigi autoantikehade lõikes (IA2-A, GAD65 ja ZnT8) eraldi binaarse tunnusena sõltuvalt, kas uuritava oli konkreetse AAK suhtes positiivne või mitte. Teiseks esitati järjestustunnusena, sõltuvalt, kui mitme – 0, 1, 2 või 3 AAK väärtused olid uuritaval positiivsed.



HLA haplotüüp – uuritavatel määrati laboratoorselt HLA haplotüübid. Sõltuvalt haplotüübist moodustati binaarne tunnus kõrgesse (DR3/DR4) ja madalasse riskirühma (DRX/DRX, DRX/DR3, DRX/DR4, DR3/DR3 või DR4/DR4) kuuluvatest uuritavatest.

### **Kaasuvad haigused**

Endokriinsed autoimmuunhaigused – eneseraporteeritud, moodustati binaarne tunnus neist, kellel ei esinenud ühtegi autoimmuunhaigust ja neist, kellel esines vähemalt üks järgnevatest autoimmuunsetest haigustest: türeoidiit, Graves-i haigus ja Addisoni tõbi.

Mitteendokriinsed autoimmuunhaigused – eneseraporteeritud, moodustati binaarne tunnus neist, kellel ei esinenud ühtegi mitteendokriinset autoimmuunhaigust ja neist, kellel esines vähemalt üks järgnevatest haigustest: tsöliaakia, autoimmuunne maksahaigus, vitiliigo ja *sclerosis multiplex*.

## **4.4 Statistiline andmeanalüüs**

Käesoleva töö andmeanalüüs koosnes kahest osast. Esimeses osas võrreldi juhtude ja kontrollide vahelisi erinevusi, teises osas alla 19-aastaste (edaspidi nooremate) ning 19-aastaste ja vanemate (edaspidi vanemate) juhtude vahelisi erinevusi. Vanuse, C-peptiidi ja HbA1c jaotuse võrdlemiseks erinevate uuringu rühmade vahel kasutati Mann-Whitney testi. Ülejäänud tunnuste puhul oli tegemist binaarse või järjestustunnusega ning nende võrdlemiseks kasutati  $\chi^2$ -testi või Fisheri täpset testi. Šansside suhte ja 95% usaldusintervalli arvutamiseks kasutati logistilist regressioonimudelit, mis juhtude ja kontrollide võrdlemisel kohandati soole ja vanusele. Andmeanalüüsiks kasutati statistikaprogrammi STATA/IC 14.2.

## **4.5 Eetika**

Töö koostati Eesti Teadusagentuuri institutsionaalse uurimistoetuse (IUT) 20–43 projekti „Diabeedi immuunmehhanismid“ raames, millel on Tartu Ülikooli inimuuringute eetika komitee luba (protokollid 163/T-6, 24.09.2007 ja 179/M-29, 16.02.2009). Kõik uuritavad andsid kirjaliku informeeritud nõusoleku. Lastel (noorematel kui 18 aastat) andsid nõusoleku nende vanemad või hooldajad. Andmed esitati isikustamata kujul ja need on säilitatud vastavalt kehtivale andmekaitsealasele seadusandlusele. Uuritavatele tagati konfidentsiaalsus.

## 5. Tulemused

### 5.1 Juhtude ja kontrollide võrdlus

Magistritöö tehti juhtkontroll uuringu põhjal. Magistritöö valimi moodustas 480 uuritavat, kelle hulgas juhte oli 209 (43,5%) ja kontrolle 271 (56,5%).

Juhtude ja kontrollide keskmine vanus oli statistiliselt oluliselt erinev ( $p<0,01$ ). Juhtude keskmine vanus oli 19 aastat (noorim 2-aastane ja vanim 68-aastane) ning kontrollidel 27 aastat (noorim 1-aastane ja vanim 82-aastane). Samuti esines statistiliselt oluline erinevus uuritavate soolises jaotuses. Juhtudest moodustasid mehed 55,0% ning kontrollidest 36,5% (tabel 2).

**Tabel 2.** Juhtude ja kontrollide demograafiliste tunnuste võrdlus

	<b>Juhud N=209</b>		<b>Kontrollid N=271</b>		<b>p-väärtus</b>
	N	%	N	%	
<b>Vanus (a)</b>					
<b>keskmine (SD)</b>	18,9 (13,8)		26,7 (16,3)		<0,01
<b>Sugu</b>					<0,01
Mehed	115	55,0	99	36,5	
Naised	94	45,0	172	63,5	
Kokku	209	100,0	271	100,0	
<b>Elukoht</b>					<0,01
Tartumaa	91	45,3	179	66,8	
Muu Eesti	110	54,7	89	33,2	
Kokku	201	100,0	268	100,0	

SD – standardhälve

Uuritavate elukoht oli teada 201 juhu ja 268 kontrolli kohta. Juhtudest elasid Tartumaal 45,3% ning kontrollidest 66,8%. Erinevused olid statistiliselt olulised ( $p<0,01$ ).

Juhtude lähisugulaste hulgas esines T1D 7,3% ning kontrollide lähisugulaste hulgas 3,1% ( $p=0,05$ ). Soole ja vanusele kohandatud logistilise regressioonianalüüsi tulemustest ilmnes, et uuritavatel, kelle vähemalt ühel lähisugulasel oli diagnoositud T1D, oli 2,89 (95% CI 1,12–7,46) korda suurem šanss haigestuda ka ise T1D-sse (tabel 3).

**Tabel 3.** Kaasuvate haiguste ning lähisugulastel esineva T1D võrdlus juhtudel ja kontrollidel

	<b>Juhud N=209</b>		<b>Kontrollid N=271</b>		<b>p</b>	<b>AOR (95% CI)* (juhud vs. kontrollid)</b>
	N	%	N	%		
<b>Lähisugulaste T1D</b>					0,05	
Ei	177	92,7	253	96,9		1
Jah	14	7,3	8	3,1		<b>2,89 (1,12–7,46)</b>
Kokku	191	100,0	261	100,0		
<b>Endokriinsed autoimmuunhaigused</b>					<0,01	
Ei	180	91,8	255	99,2		1
Jah	16	8,2	2	0,8		<b>13,02 (2,83–59,78)</b>
Kokku	196	100,0	257	100,0		
<b>Mitteendokriinsed autoimmuunhaiguseid</b>					0,36	
Ei	190	98,5	257	99,2		1
Jah	3	1,6	2	0,8		2,31 (0,38–14,93)
Kokku	193	100,0	259	100,0		

AOR (95% CI) – kohandatud šansside suhe, 95% usaldusintervall; \*kohandatud soole, vanusele

Endokriinseid autoimmuunhaiguseid esines 8,2% juhtudest ja 0,8% kontrollidest ( $p<0,01$ ). Kohandatud mudeli tulemusel selgus, et neil, kellel oli diagnoositud mõni endokriinsetest autoimmuunhaigustest, oli 13,02 (95% CI 2,83–59,78) korda suurem šanss ka T1D diagnoosile, mitteendokriinsete autoimmuunhaiguste esinemisel oli šanss T1D-le 2,31 (95% CI 0,38–14,93). Viimane tulemus polnud aga statistiliselt oluline ( $p=0,36$ ) (tabel 3).

Enteroviiruste antikehade osas positiivseid uuritavaid oli rohkem juhtude (42,2%) kui kontrollide hulgas (22,7%). Enteroviiruste antikehade olemasolul oli šanss T1D esinemisele 2,82 korda suurem (95% CI 1,83–4,34), kui neil, kellel enteroviiruste antikehi ei esinenud. Noorematel ning vanematel juhtudel, kes olid enteroviiruste IgA antikeha suhtes positiivsed, oli vastavalt 2,51 (95% CI 1,27–4,95) ja 3,42 (95% CI 1,84–6,39) korda suurem šanss olla T1D diagnoosiga (tabel 4).

**Tabel 4.** Enteroviiruste vastaste IgA antikehade jaotus juhtude ja kontrollide hulgas

	Juht		Kontroll		p- väärtus	AOR (95% CI) (juhud vs. kontrollid)
	N	%	N	%		
<b>EV IgA</b>					<0,01	
pos	81	42,2	61	22,7		<b>2,82 (1,83–4,34)*</b>
neg	111	57,8	208	77,3		1
Kokku	192	100,0	269	100,0		
<b>Noorematel esinev EV IgA</b>					<0,01	
pos	48	39,3	15	20,3		<b>2,51 (1,27–4,95)**</b>
neg	74	60,7	59	79,7		1
Kokku	122	100,0	74	100,0		
<b>Vanematel esinev EV IgA</b>					<0,01	
pos	33	47,1	46	23,6		<b>3,42 (1,84–6,39)**</b>
neg	37	52,9	149	76,4		1
	70	100,0	195	100,0		

AOR (95% CI) – kohandatud šansside suhe, 95% usaldusintervall; \*kohandatud soole, vanusele;  
 \*\*kohandatud soole; EV IgA – enteroviiruste IgA antikeha

## 5.2 Juhtude võrdlus nooremas ja vanemas vanuserühmas

Juhud saabusid uuringusse 1–61 päeva jooksul (keskmiselt 5,7 päeva) pärast diagnoosi saamist. Nende keskmine C-peptiidi tase oli 0,3 nmol/l (N=151; SD=0,3). Samal ajal HbA1c tase 12,1% ehk peaaegu 6 ühiku võrra kõrgem T1D ravi eesmärgväärtusest ( $\leq 6,5\%$ ).

Uuringusse saabunud nooremate ja vanemate juhtude võrdluses selgus, et nooremate juhtude hulgas oli naisi ja mehi sarnasel määral (M=48,8% ja N=51,2%) ning see oli erinev ( $p=0,03$ ) vanemate juhtude soolisest jaotusest (M=64,6% ja N=35,4%). Samuti oli nooremate juhtude hulgas rohkem muu Eesti ja vanemate juhtude hulgas rohkem Tartumaa elukohaga uuritavaid ( $p<0,01$ ) (tabel 5).

**Tabel 5.** Nooremate (<19 aastaste) ja vanemate (≥19 aastaste) juhtude demograafiline jaotus

<b>Juhud N=209</b>					
	<b>Nooremad N=127</b>		<b>Vanemad N=82</b>		<b>p-väärtus</b>
	N	%	N	%	
<b>Sugu</b>					0,03
Mehed	62	48,8	53	64,6	
Naised	65	51,2	29	35,4	
Kokku	127	100,0	82	100,0	
<b>Elukoht</b>					<0,01
Tartumaa	44	36,4	47	58,8	
Muu Eesti	77	63,6	33	41,3	
Kokku	121	100,0	80	100,0	

Nooremate juhtude hulgas said ligikaudu 78,5% uuritavatest diabeedi diagnoosi kuu aja jooksul pärast sümptomite tekkimist. Vanematel juhtudel diagnoositi T1D samuti kõige sagedamini (44,2%) kuu möödudes, kuid erinevus pikemate perioodidega polnud nii selge. Nooremate juhtude šanss saada diagnoos kuu aja jooksul pärast esmaste sümptomite esinemist oli 9,58 (95% CI 3,79–24,25) korda suurem võrreldes vanemate juhtudega. Samal ajal kui >1...≤2 kuud kestnud sümptomite korral oli erinevus 3,18 (95% CI 1,03–9,86) korda suurem (tabel 6).

**Tabel 6.** Sümptomite kestus enne arsti poole pöördumist noorematel (<19-aastastel) ja vanematel (≥19-aastastel) juhtudel

<b>Juhud N=209</b>					
	<b>Nooremad N=127</b>		<b>Vanemad N=82</b>		<b>OR (95% CI) (nooremad vs. vanemad)</b>
	N	%	N	%	
<b>Sümptomite kestus</b>					
0...≤1 kuu	95	78,5	34	44,2	<b>9,58 (3,79–24,25)</b>
>1...≤2 kuud	13	10,7	14	18,2	<b>3,18 (1,03–9,86)</b>
>2...≤3 kuud	6	5,0	5	6,5	4,11 (0,96–17,63)
>3 kuud	7	5,8	24	31,1	1
Kokku	121	100,0	77	100,0	
<b>Ketoatsidoos ja/või -uuria</b>					
Ei	25	21,7	22	29,3	1
Jah	90	78,3	53	70,7	1,49 (0,77–2,91)
Kokku	175	100,0	75	100,0	

OR (95% CI) – šansside suhe, 95% usaldusintervall

Mõlemas vanusegrupis esines rohkem neid, kellel oli diagnoosimise hetkel tuvastatud ketoatsidoos ja/või -uuria. Sealjuures oli noorematel juhtudel 1,49 (CI 95% 0,77–2,91) korda suurem tõenäosus ketoatsidoosi ja/või -uuria esinemisele. Küll aga polnud erinevus statistiliselt oluline (tabel 6).

### 5.3 Nooremate ja vanemate juhtude geneetiliste ja keskkondlike riskitegurite võrdlus

Tabelis 7 võrreldakse AAK jaotust kahes vanuserühmas. Ilmnes, et kolme AAK osas positiivseid juhte oli enim nooremate juhtude hulgas (49,6% vs. 25,6%) ning uuritavaid, kellel ei esinenud ühtegi AAK-d, oli rohkem vanemate juhtude hulgas (22,0% vs. 2,4%).

**Tabel 7.** Nooremate (<19-aastaste) ja vanemate (≥19-aastaste) juhtude AAK jaotuse võrdlus

Juhud N=209						
	Nooremad N=127		Vanemad N=82		OR (95% CI) (nooremad vs. vanemad)	
	N	%	N	%		
AAK arv						
0 AAK	3	2,4	18	22,0	1	
1 AAK	16	12,6	22	26,8	4,36 (1,09–17,37)	
2 AAK	45	35,4	21	25,6	12,86 (3,41–48,49)	
3 AAK	63	49,6	21	25,6	18,00 (4,82–67,26)	
Kokku	127	100,0	82	100,0		
AAK tüüp						
GAD65A						
Pos	104	81,9	62	75,6	1,46 (0,74–2,87)	
Neg	23	18,1	20	24,4	1	
Kokku (N, %)	127	100,0	82	100,0		
ZnT8A						
Pos	77	77,0	21	31,3	7,33 (3,66–14,70)	
Neg	23	23,0	46	68,7	1	
Kokku (N, %)	100	100,0	67	100,0		
IA2A						
Pos	87	68,5	29	35,4	3,97 (2,21–7,15)	
Neg	40	31,5	53	64,6	1	
Kokku	127	100,0	82	100,0		

OR (95% CI) – šansside suhe, 95% usaldusintervall

AAK tüüpe – GAD65A, ZnT8A ja IA2A võrdluses ilmnes, et kõiki AAK tüüpe esines enam nooremate juhtude seas võrreldes vanemate juhtudega, küll aga puudus statistiliselt oluline erinevus GAD65A puhul (tabel 7).

Tabel 8 kajastab HLA haplotüüpidel põhinevate riskirühmade jaotust nooremate ja vanemate juhtude hulgas võrreldes kõrgesse (DR3/DR4) ja madalasse riskirühma (DRX/DRX, DRX/DR3, DRX/DR4, DR3/DR3, DR4/DR4) kuuluvaid uuritavaid. Võrdluse tulemusel selgus, et noorematel juhtudel oli 2,28 (95% CI 1,07–4,87) korda suurem tõenäosus kuuluda kõrgesse riskirühma ehk omada HLA DR3/DR4 haplotüüpe.

**Tabel 8.** Nooremate (<19-aastaste) ja vanemate (≥19-aastaste) juhtude HLA haplotüüpidel põhinevate riskirühmade jaotuse võrdlus

	Juhud N=209				OR (CI 95%) (nooremad vs. vanemad)
	Nooremad N=127		Vanemad N=82		
	N	%	N	%	
HLA riskirühm					
Kõrge risk	39	33,0	11	17,7	2,28 (1,07–4,87)
Madal risk	79	67,0	51	82,3	1
Kokku	118	100	62	100,0	

OR (95% CI) – šansside suhe, 95% usaldusintervall; Kõrge risk – HLA haplotüübid DR3/DR4, Madal risk – HLA haplotüübid DRX/DRX, DRX/DR3, DRX/DR4, DR3/DR3, DR4/DR4

## 6. Arutelu

T1D avaldumus on ülemaailmselt jätkuvas tõusutrendis (14, 19, 47, 48). Tegemist on kroonilise haigusega, mille kontrolliks on patsiendid sunnitud igapäevaselt ravimeid tarvitama. Vaatamata valdkonna olulisusele ei ole autorile teadaolevalt avaldatud ühtegi Eesti andmetel põhinevat T1D-teemalist tööd, mis koondaks HLA, AAK, enteroviiruste jm demograafiliste tunnuste temaatikat.

Käesoleva töö eesmärgiks oli kirjeldada ja võrrelda esmasdiagnoosiga T1D patsientide AAK spektrit, HLA haplotüüpidel põhinevat riski ja enteroviiruste antikehade esinemist diabeedihaigete immuunmehhanismide uuringus osalenud uuritavate vahel. Uuringus kasutatud andmed koguti IUT 20–43 teadusprojekti „Diabeedi immuunmehhanismid“ raames ajavahemikul oktoober 2004 kuni oktoober 2018.

Uuringu valim koosnes 209 T1D diagnoosiga juhust ja 271 kontrollist. Juhtude keskmine vanus oli 8 aastat väiksem kui kontrollidel, samuti esinesid statistiliselt olulised erinevused soo ja elukoha osas. Juhtude ja kontrollrühma võrdlemisel rakendatud logistilise regressioonimudeli kohandamisel kasutati neist vaid soo ja vanuse komponenti. Elukohta ei arvestatud, kuna selle erinevused olid tingitud pigem ravisüsteemi korraldusest, kui sellest, et üks või teine Eesti piirkond omaks olulist mõju T1D esinemisele või puudumisele.

Juhtude valikul oli kriteeriumiks, et tegemist oleks esmasdiagnoositud patsientidega. Sealjuures jälgiti, et patsiendid oleks liitunud uuringuga kuni 2 kuu möödudes pärast T1D diagnoosimist. Seeläbi välditi insuliinravi mõju T1D-puhustele biomarkeritele. Eelneva insuliinravi puudumisele ning sellest tingitud halvale glükeemilise kontrolli rutiinile viitavad ka HbA1c väärtused, mis peegeldavad viimase 2–3 kuu vereglükoosi näitajaid. T1D diagnoosiga patsientidele määratud insuliinravi eesmärk on tagada HbA1c tase  $\leq 6,5\%$  (27, 28). Antud uuringu juhtude keskmine HbA1c% oli 12,1%. Lisaks määrati juhtudel paastuseerumi C-peptiidi tase, vältimaks T2D juhtude sattumist valimisse (31).

Mitmete T1D pärilikkusele keskendunud uuringute tulemustest on ilmnenu, et neil, kelle perekonnas esineb T1D, on suurem tõenäosus ka ise sellesse haigestuda (13). Ka käesolevast tööst selgus, et uuritavatel, kelle vähemalt ühel lähisugulasel esines T1D, oli 2,89 (95% CI 1,12–7,46) korda suurem šanss olla ka ise T1D diagnoosiga. Lisaks pärilikkusele võib tulemust seostada ka sellega, et lähisugulased elavad tihti sarnastes keskkonnatingimustes.

Uuritavad, kellel oli vähemalt üks uuringusse kaasatud endokriinsest autoimmuunhaigusest – Graves'i haigus, autoimmuunne türeoidiit, Addisoni tõbi – oli 13,02 (95% CI 2,83–59,78) korda suurem T1D-sse haigestumise šanss. Mitteendokriinsete autoimmuunhaiguste –



tsöliaakia, autoimmuunse maksahaiguse, vitiliigo, *sclerosis multiplex*'i esinemise osas statistiliselt olulist erinevust ei esinenud. Sealjuures oli 8% juhtudest endokriinne ja 2% juhtudest mitteendokriinne autoimmuunhaigus. Ka Hughes'e ja kolleegide uuringu tulemustest toodi välja, et 27% T1D diagnoosiga uuritavatel oli lisaks veel mõni autoimmuunne haigus. Samal ajal on autoimmuunhaiguste keskmine levimus üldrahvastikus 3–8% (46). Suur erinevus käesoleva töö tulemustega võib olla tingitud Hughes'e ja kolleegide töös kasutatud suuremast valimist, samuti kõrgemast uuritavate keskmisest vanusest (23,0 aastat; SD=16,9 aastat, meil 18,9 aastat; SD=13,8 aastat) ja naissoost uuritavate mõnevõrra suuremast osakaalust (50%, meil 45%). Viimast on oluline arvestada, kuna autoimmuunhaigused on enamlevinud naiste kui meeste hulgas. T1D juhtude suuremat tõenäosust teiste autoimmuunhaiguste esinemisele selgitatakse eelkõige paljude autoimmuunhaiguste sarnaste geneetiliste ja keskkondlike riskiteguritega (46).

Keskkondlikest riskiteguritest seostatakse T1D viirushaiguste ja toitumisega. Andmete puudumise tõttu viimast antud töös ei uuritud. Viirustest seostatakse T1D-ga enim enteroviiruseid, spetsiifilisemalt B-grupi Cocksackie viirust (41). Käesoleva uuringu tulemused kinnitasid, et enteroviiruste IgA antikeha osas positiivseid (mis peegeldavad varasemat või hiljutist kokkupuudet enteroviirustega) oli juhtude hulgas rohkem kui kontrollide hulgas. Sealjuures enteroviiruste antikeha olemasolul oli šanss T1D diagnoosile 2,82 korda (95% CI 1,83–4,34) suurem kui enteroviiruste IgA osas negatiivseil.

Andmeanalüüsi teine osa põhines nooremate (<19-aastaste) ja vanemate (≥19-aastaste) T1D juhtude võrdlusel. Vanemate uuritavate hulgas oli oluliselt rohkem mehi kui naisi (M=65%, N=35%) ning nooremate juhtude hulgas oli sooline jaotus peaaegu võrdne (M=49%, N=51%). Tartumaalt pärit uuritavaid oli nooremate juhtude hulgas 36% ja vanemate juhtude hulgas 59%. Vaatamata mainitud näitajate statistiliselt olulisele erinevusele ei olnud need oluliselt seotud HLA haplotüüpide, enteroviiruste vastaste antikehade ning autoantikehade tüübi ja arvu esinemisega vanuserühmade järgi. Seetõttu ei kasutatud nooremate ja vanemate juhtude võrdlemisel kohandatud mudelit, säilitades nii mudeli tulemuste kahesuunalise tõlgendatavuse. Uuringust ilmnas, et võrreldes vanamate juhtudega, said nooremad juhud T1D diagnoosi 9,58 (95% CI 3,79–24,25) korda suurema šansiga 1 kuu ja 3,18 (95% CI 1,03–9,86) kordse šansiga  $>1 \dots \leq 2$  kuu jooksul pärast esmaste sümptomite esinemist. Erinevus võib olla põhjustatud sellest, et nooremas eas avalduv T1D on tihti agressiivsema kuluga ning seetõttu võisid nooremate juhtude sümptomid selgemalt avalduda (2). Teisest küljest võivad lapsevanemad, kui peamised lapse tervise eest vastutajad, olla kõrvalekalletest rohkem häiritud ning pöörduda kiiremini arsti vastuvõtule. Samal ajal võivad täiskasvanud endal esinevaid terviseprobleeme alahinnata või seostada neid mõne muu kaasuva haiguse või ealise

iseärasusega. Teisalt võis erinevus olla põhjuseks ka sellest, et vanemad võisid jätta märkamata lapsel esinenud esmased sümptomid ja täheldada neid alles pärast ägenemist.

Hüpoteesiga, et lastel esinev T1D on agressiivsema kuluga, seostub käesolevast tööst selgunud tulemus, mille põhjal oli ühe, kahe ja kolme AAK esinemise šanss noorematel juhtudel vastavalt 4,36 (95% CI 1,09–17,37), 12,86 (95% CI 3,41–48,49) ja 18,00 (95% CI 4,82–67,26) korda suurem kui vanematel juhtudel. Mitme AAK esinemine suurendab võimalust agressiivsemateks autoreaktiivseteks protsessideks. AAK tüüpide võrdluses esines statistiliselt oluline erinevus ZnT8A ja IA2A osas. Kusjuures noorematel juhtudel oli suurem šanss omada ZnT8A (OR=7,33; 95% CI 3,66–14,70) ja IA2A (OR=3,97; 95% CI 2,21–7,15)

Selleks, et hinnata geneetiliste riskitegurite esinemist kahes vanuserühmas kirjeldati uuritavate kuulumist T1D suhtes kõrge ja madala riskiga rühmadesse, vastavalt esinevatele HLA haplotüüpidele. Kusjuures kõrge riskiga uuritavate hulka loeti need, kellel esinesid DR3/DR4 haplotüübid ja madalama riskiga need, kellel esinesid DR4/DR4, DR3/DR3, DRX/DR3, DRX/DR4 või DRX/DRX. Taoline rühmitamine tehti, kuna vastasel korral oleks uuritavate arv osades rühmades olnud liialt väike usaldusväärsete järelduste tegemiseks. Eelnevat arvesse võttes selgus meie uuringu tulemustest, et nooremate juhtude šanss kuuluda kõrge riskiga HLA haplotüüpe omavate uuritavate hulka oli 2,28 (95% CI 1,07–4,87) korda suurem võrreldes vanemate juhtudega. Leitud seos võib omakorda olla soodustavaks teguriks agressiivsemate autoreaktiivsete protsesside kujunemisele DR3/DR4 haplotüüpidega haigetel ning seeläbi soodustada ka sümptomite selgemale väljendumisele.

Töös esinevad ka mõned puudused. Tulenevalt juht-kontroll uuringu kavandist ja ankeetküsitlusest võivad andmed olla mõjutatud meenutusnihkest, selektsiooninihkest ja segavatest teguritest. Viimaste mõju vähendamiseks kasutati andmeanalüüsis vanusele ja soole kohandatud logistilist regressioonimudelit, kaaluti ka koosmõju komponendi lisamist, kuid see ei olnud statistiliselt oluline. Samas võisid tulemusi mõjutada ka mõned sellised segavad tegurid, millele info puudumise tõttu polnud võimalik mudeleid kohandada. Näiteks võis üheks selliseks teguriks olla toitumine, kui üks keskkondlikest riskiteguritest. Meenutusnihke osas võivad enim olla mõjutatud küsimused perekonnas esineva T1D ja sümptomite kestuse kohta. Uuritavad ei pruukinud täpselt mäletada lähisugulastel esinevaid haiguseid ning samal ajal võisid diabeedihaigete rühma kuuluvad uuritavad mäletada neid paremini, kui kontrollisikute hulka kuulunud uuritavad. Samuti ei pruugi uuritavad täpselt mäletada, millal täpsemalt esimesed sümptomid tekkisid. Uuringu disainist tingituna on selektsiooninihkest enim mõjutatud uuritavate elukoht ja vanus. Valimisse oli suurem võimalus sattuda Tartu elukohaga uuritavatel, kuna uuring viidi läbi Tartus. Eeldatavasti põhjustas selektsiooninihe ka kontrollgrupi kõrgemat keskmist vanust, kuna uuringus osalemine eeldab veeniverevõtmist,

milleks lapsed ei pruukinud valmis olla. Uuringu puuduseks on ka asjaolu, et mitme ankeedi küsimuse osas esinesid puuduvad väärtused, enim just juhtude hulgas. Viimane võis tuleneda sellest, et ankeetküsitlusi täideti hiljem, peale uuritava lahkumist raviasutusest ja seetõttu puudus arstidel võimalus täpsustavate küsimuste esitamiseks.

## 7. Järeldused

Käesolev magistritööga kirjeldati ja võrreldi T1D-ga seotud tunnuseid esiteks diabeedihaigete ja kontrollisikute hulgas ning teiseks nooremate ja vanemate juhtude hulgas. Töö tulemuste põhjal võib teha järgmised järeldused:

- T1D, kui autoimmunhaiguse, esinemine on seotud suurema riskiga ka teiste autoimmunhaiguste tekkele. Diabeedihaigete hulgas esines rohkem kaasuvaid haigusi kui kontrollisikutel. Seda eriti endokriinsete autoimmunhaiguste (türeoidiit, Graves'i haigus ja Addisoni tõbi) näol.
- Enteroviiruste infektsioonid viitavad ka käesolevas uuringus seosele T1D tekkega. See järeldus põhines faktil, et enteroviiruste vastaseid antikehi leiti rohkem diabeedihaigete kui kontrollisikute hulgas.
- Nooremate juhtude hulgas esines rohkem HLA riskirühma (DR3/DR4) esindajaid kui vanemate juhtude hulgas. Neil oli 2,28 korda suurem šanss kuuluda HLA haplotüüpide alusel kõrgesse riskirühma.
- Noorematel avalduvale T1D-le on iseloomulikud agressiivsemad autoimmuunreaktsioonid. Kõik diabeediga assotsieeruvad AAK tüübid esines sagedamini nooremate kui vanemate juhtude hulgas. Samuti oli nooremate juhtude hulgas rohkem kahe või kolme AAK osas positiivseid uuritavaid.

## 8. Kasutatud kirjandus

1. Lexicon – Geneetika. (<http://geneetika.ee/lexicon/>) [22.04.2019].
2. American Diabetes Association AD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2010;33:62–9.
3. Lubi, M. Diabeedi klassifikatsioon, diagnoosimine ja kompensatsiooni kriteeriumid. *Eesti Arst* 2006;85:362–5.
4. Knip M, Siljander H, Ilonen J, et al. Role of humoral beta-cell autoimmunity in type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes* 2016;17:17–24.
5. Verge CF, Gianani R, Kawasaki E, et al. Prediction of type I diabetes in first-degree relatives using a combination of insulin, GAD, and ICA512bdc/IA-2 autoantibodies. *Diabetes* 1996;45:926–33.
6. Uiho R, Kisand K, Peterson P, et al. *Immunoloogia*. Tartu: Tartu Ülikooli kirjastus; 2015.
7. Noble JA. Immunogenetics of type 1 diabetes: A comprehensive review. *J Autoimmun* 2015;64:101–12.
8. Filippi CM, Herrath MG. Viral trigger for type 1 diabetes: pros and cons. *Diabetes* 2008;57:2863–71.
9. Pociot F, McDermott MF. Genetics of type 1 diabetes mellitus. *Genes Immun* 2002;3:235–49.
10. Filippi C, Herrath M. How viral infections affect the autoimmune process leading to type 1 diabetes. *Cell Immunol* 2005;233:125–32.
11. Viskari H, Oikarinen S, Hoppu S, et al. Live attenuated enterovirus vaccine (OPV) is not associated with islet autoimmunity in children with genetic susceptibility to type 1 diabetes: prospective cohort study. *Diabetologia* 2018;61:203–9.
12. Tooley JE, Herold KC. Biomarkers in type 1 diabetes: application to the clinical trial setting. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2014;21:287–92.
13. Sperling M. *Type 1 diabetes: etiology and treatment*. Totowa New Jersey: Humana Press; 2003.
14. Hummel S, Ziegler AG. Early determinants of type 1 diabetes: experience from the BABYDIAB and BABYDIET studies. *Am J Clin Nutr* 2011;94:1821–1823.
15. Antvorskov JC, Josefsen K, Engkilde K, et al. Dietary gluten and the development of type 1 diabetes. *Diabetologia* 2014;57:1770–80.
16. Borchers AT, Uiho R, Gershwin ME. The geoepidemiology of type 1 diabetes. *Autoimmun Rev* 2010;9:355–65.
17. Teeäär T, Liivak N, Heilman K, et al. Increasing incidence of childhood-onset type 1 diabetes mellitus among Estonian children in 1999–2006. Time trend analysis 1983–2006. *Pediatr Diabetes* 2010;11:107–10.
18. Tervise Arengu Instituut. Tervisestatistika ja terviseuuringute andmebaas. EH12: Esmashaigestumus 100 000 elaniku kohta soo ja vanuserühma järgi.

([http://pxweb.tai.ee/PXWeb2015/pxweb/et/02Haigestumus/02Haigestumus\\_\\_01Esmashaigestumus/EH12.px/table/tableViewLayout2/?rxid=e6ca7e2f-f88e-42b8-9638-73480ab61601](http://pxweb.tai.ee/PXWeb2015/pxweb/et/02Haigestumus/02Haigestumus__01Esmashaigestumus/EH12.px/table/tableViewLayout2/?rxid=e6ca7e2f-f88e-42b8-9638-73480ab61601)) [20.03.2019].

19. Patterson CC, Dahlquist GG, Gyürüs E, et al. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989–2003 and predicted new cases 2005–20: a multicentre prospective registration study. *Lancet* 2009;373:2027–33.
20. Ludvigsson J. Increasing Incidence but Decreasing Awareness of Type 1 Diabetes in Sweden. *Diabetes Care* 2017;40:143–4.
21. Patterson CC, Harjutsalo V, Rosenbauer J, et al. Trends and cyclical variation in the incidence of childhood type 1 diabetes in 26 European centres in the 25 year period 1989–2013: a multicentre prospective registration study. *Diabetologia* 2019;62:408–417.
22. Tuomi T. Type 1 and type 2 diabetes: what do they have in common? *Diabetes* 2005;54:40–5.
23. Uudelepp ML, Kohtla KTV. Haigusjuht: haruldane suhkruhaigus MODY 2. *Eesti Arst* 2006;85:46–8.
24. Kisand K, Uibo R. LADA and T1D in Estonian population – Two different genetic risk profiles. *Gene* 2012;497:285–91.
25. Reinehr T. Type 2 diabetes mellitus in children and adolescents. *World J Diabetes* 2013;4:270–81.
26. Rajasalu T, Salur L. Laste ja täiskasvanute 1. tüüpi diabeet Eestis: HLA-DQB1 alleelid ja haigusseoselised autoantikehad. *Eesti Arst*. 2006;85:418–24.
27. Yoon J-W, Jun H-S. Autoimmune Destruction of Pancreatic b Cells. *American Journal of Therapeutics* 2005;12:580–591.
28. Tillmann V, Grünberg H. Laste diabeetilise ketoatsidoosi ravijuhend. ([https://www.kliinikum.ee/infokeskus/mk\\_files/ravijuhis.php?juhis=3203](https://www.kliinikum.ee/infokeskus/mk_files/ravijuhis.php?juhis=3203)) [12.05.2019].
29. World Health Organization. Definition and diagnosis of Diabetes Mellitus and intermediate hyperglycemia: report of a WHO/IDF consultation; 2006. ([http://www.who.int/diabetes/publications/Definition and diagnosis of diabetes\\_new.pdf](http://www.who.int/diabetes/publications/Definition%20and%20diagnosis%20of%20diabetes_new.pdf)) [28.03.2019].
30. Ambos A, Raie E, Kiudma T, et al. 2. tüüpi diabeedi Eesti ravijuhend. *Eesti Arst* 2016;95:465–73.
31. Lehtme R. C-peptiid (S,P-C-pept). (<https://kliinikum.ee/yhendlabor/pildid/kasiraamat/BC/c-peptiid.pdf>) [10.04.2019].
32. Zhang L, Eisenbarth GS. Prediction and prevention of Type 1 diabetes mellitus. *J Diabetes* 2011;3:48–57.
33. Knip M, Korhonen S, Kulmala P, et al. Prediction of type 1 diabetes in the general population. *Diabetes Care* 2010;33:1206–12.
34. Bravis V, Kaur A, Walkey HC, et al. Relationship between islet autoantibody status and the clinical characteristics of children and adults with incident type 1 diabetes in a UK cohort. *BMJ*

- Open 2018;8:e020904.
35. Orban T, Sosenko JM, Cuthbertson D, et al. Pancreatic islet autoantibodies as predictors of type 1 diabetes in the Diabetes Prevention Trial-Type 1. *Diabetes Care* 2009;32:2269–74.
  36. Lampasona V, Liberati D. Islet Autoantibodies. *Curr Diab Rep* 2016;16:53.
  37. Fenalti G, Buckle AM. Structural biology of the GAD autoantigen. *Autoimmun Rev* 2010;9:148–52.
  38. Steck AK, Eisenbarth GS. Genetic Similarities Between Latent Autoimmune Diabetes and Type 1 and Type 2. *Diabetes* 2008;57:1433–7.
  39. Palmer JP, Asplin CM, Clemons P, et al. Insulin antibodies in insulin-dependent diabetics before insulin treatment. *Science* 1983;222:1337–9.
  40. Decochez, K. IA-2 antibodies. *Diapedia* 2014. (<https://doi.org/10.14496/dia.21042821251.14>) [12.02.2019].
  41. Wenzlau JM, Juhl K, Yu L, et al. The cation efflux transporter ZnT8 (Slc30A8) is a major autoantigen in human type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:17040–5.
  42. Arvan P, Pietropaolo M, Ostrov D, et al. Islet autoantigens: structure, function, localization, and regulation. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012;2:a007658.
  43. Tein J-Y, MacKinnon DP. *Estimating Mediated Effects with Survival Data*. Tokyo: Springer Japan; 2003.
  44. Vaziri-Sani F, Oak S, Radtke J, et al. ZnT8 autoantibody titers in type 1 diabetes patients decline rapidly after clinical onset. *Autoimmunity* 2010;43:598–606.
  45. Cernea S, Dobreanu M. Diabetes and beta cell function: from mechanisms to evaluation and clinical implications. *Biochem medica* 2013;23:266–80.
  46. Hughes JW, Riddlesworth TD, DiMeglio LA, et al. Autoimmune Diseases in Children and Adults With Type 1 Diabetes From the T1D Exchange Clinic Registry. *J Clin Endocrinol Metab* 2016;101:4931–7.
  47. Krzewska A, Ben-Skowronek I. Effect of Associated Autoimmune Diseases on Type 1 Diabetes Mellitus Incidence and Metabolic Control in Children and Adolescents. *Biomed Res Int* 2016;2016:1–12.
  48. Barker JM. Type 1 Diabetes-Associated Autoimmunity: Natural History, Genetic Associations, and Screening. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:1210–7.
  49. Steinberg L, Lamborn SD, Dornbusch SM, et al. Impact of Parenting Practices on Adolescent Achievement: Authoritative Parenting, School Involvement, and Encouragement to Succeed. *Child Dev* 1992;63:1266.
  50. Redondo MJ, Steck AK, Pugliese A. Genetics of type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes* 2018;19:346–53.
  51. Ilonen J, Kiviniemi M, Lempainen J, et al. Genetic susceptibility to type 1 diabetes in childhood – estimation of HLA class II associated disease risk and class II effect in various phases of islet autoimmunity. *Pediatr Diabetes* 2016;17:8–16.

52. Karvonen M, Viik-Kajander M, Moltchanova E, et al. Incidence of childhood type 1 diabetes worldwide. Diabetes Mondiale (DiaMond) Project Group. *Diabetes Care* 2000;23:1516–26.
53. Hussen HI, Yang D, Cnattingius S, et al. Type I diabetes among children and young adults: the role of country of birth, socioeconomic position and sex. *Pediatr Diabetes* 2013;14:138–48.
54. Maahs DM, West NA, Lawrence JM, et al. Epidemiology of type 1 diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010;39:481–97.
55. Secrest AM, Costacou T, Gutelius B, et al. Associations between socioeconomic status and major complications in type 1 diabetes: the Pittsburgh epidemiology of diabetes complication (EDC) Study. *Ann Epidemiol* 2011;21:374–81.
56. Salur L, Oikarinen S, Tauriainen S, et al. Human Vaccines Enterovirus infections in young infants: Are children still protected by maternal antibodies? *Hum Vaccin* 2011;7:966–71.



# **Type One Diabetes Associated Autoantibodies, Genetical and Environmental Risk Factors in Estonia**

Hanna Sepp

## ***Summary***

*Diabetes mellitus* is a group of metabolic diseases characterized by continuous increased plasma glucose levels resulting from defects in insulin secretion and/or function. Three major types of diabetes are type 1 diabetes (T1D), type 2 diabetes (T2D) and gestation diabetes (GDM). Most cases of T1D (~95%) result from a cellular-mediated autoimmune destruction of the  $\beta$ -cells of the pancreas (2). The trigger of the disease is still unknown but several associations with human leukocyte antigen (HLA) and some environmental factors, for instance enteroviruses, have been described. Also, common characteristic features of autoimmunity are autoantibodies against islet cells, insulin, GAD65 and ZnT8.

Type 1 diabetes can be diagnosed at any age, however, it is more common among those who are under 30-years old. At the same time, during last decade the incidence and prevalence of T1D have been increased, especially among children under 5-years old (19). According to the National Institute of Health Development of Estonia, the incidence rate of T1D in Estonia in 2016 was 43.0 per 100 000 persons. Distribution of incidence between age groups 1–4, 5–9, 10–14, 15–19, 20–24 and 25–34 years old was 10.7, 41.7, 44.3, 38.5, 40.0 and 39.5 per 100 000 persons, respectively (18).

This Master's Thesis introduces a case-control study with the aim to describe and compare the spectrum of autoantibodies, HLA risk alleles and enterovirus antibodies of patients with newly diagnosed T1D based on the data from study of "Immune Mechanisms in Diabetes". A study population of these Master's Thesis was formed during the period of 1 October 2004 until 31 October 2018. In total, 480 volunteers were involved in the study. Cases included (n=209) patients with newly diagnosed T1D who joined the study within two months of diagnose. They attended a medical appointment in one of the following clinical centers: Internal Medicine Clinic of Tartu University Hospital, Children's Clinic of Tartu University Hospital, North Estonia Medical Centre, East Tallinn Central Hospital, Tallinn Children's Hospital and Kuressaare Hospital. The control group (n=271) was formed as a convenient sample of volunteered persons without T1D, including employees and students of Tartu University, and patients who received microsurgical surgery in Children's Clinic of Tartu University Hospital.

The data analysis included comparing T1D associated characteristics; 1) between cases vs. controls; and 2) between younger (age of under 19-years old) vs. older cases (age of 19-

years old and older). Data analysis methods like the Mann-Whitney test,  $\chi^2$ -test or Fisher's exact test and logistic regression modelling were conducted using statistical software STATA/IC 14.2.

In our study, those participants whose first-degree relatives had T1D had higher risk to T1D. These cases also had a higher risk of autoimmune endocrine comorbidities (OR=13,02 95% CI 2,83–59,78) and non-autoimmune endocrine comorbidities (OR=2,31 95% CI 0,38–14,93). The odd ratio to have enterovirus antibodies was 2,82 times higher among cases than controls.

While comparing the distribution of HLA haplotypes between younger and older cases we found that risk-conferring HLA haplotype (DR3/DR4) was more frequent among younger than older cases, with prevalence of 33% and 18%, respectively. At the same time all types of autoantibodies were presented more commonly among younger than older cases. Moreover, for younger cases, the risk of single autoantibody was 4,36 (95% CI 1,09–17,37) times higher, the risk of two autoantibodies was 12,86 (95% CI 3,41–48,49) times higher and the risk of three autoantibodies was 18,00 (95% CI 4,86–67,26) times higher than for older cases.

In conclusion, both autoimmune and non-autoimmune comorbidities were more frequent among cases than controls. They also had higher probability for enterovirus antibodies. All type of autoantibodies, as well as the tendency to have a different type of autoantibody at the same time, were more characteristic to younger cases. Risk-conferring HLA haplotype (DR3/DR4) was more frequent among younger than older cases.

# Tänuavaldus

Käesoleva magistritöö autor soovib tänada:

- Juhendajaid immunoloogia professor Raivo Uibot ja biostatistika assistenti Heti Pisarevi
- Eelretsensenti Ene Indermittet
- Tartu Ülikooli bio- ja siirdemeditiini instituudi immunoloogia osakonna spetsialisti Kaja Metsküla autoantikehade määramise eest
- Tartu Ülikooli bio- ja siirdemeditiini instituudi immunoloogia osakonna spetsialisti Ija Talja enteroviiruste vastaste antikehade määramise eest
- Teisi TÜ bio- ja siirdemeditiini instituudi immunoloogia õppetooli labori spetsialiste (sh Kristi Alnek, Helis Janson-Tasa, Astrid Oras, Katrin Pruul jt)
- Teisi TÜ bio- ja siirdemeditiini instituudi immunoloogia õppetooli töötajaid abi ja mõistmise eest nii magistritöö kui kogu magistri õpingute jooksul
- Tänan koostöö eest:
  - kõiki uuringus osalenud vabatahtlikke, arste ja kliinikuid
  - SA TÜK Sisekliinik (Dr Gusseva, Dr Tuisk, Dr Matjus, Dr Salu, Dr Tammiksaar, Dr Reppo, Dr Lubi)
  - SA TÜK Kirurgiikliinik (Dr Varik)
  - ITK endokrinoloogiakeskus (Dr Jakovlev, Dr Merandi, Dr Verrev)
  - SA PERH (Dr Rudenko, Dr Ambos)
  - Kuressaare Haigla SA (Dr Nemvalts)
  - SA TLA (Dr Einberg, Dr Heilman)
  - SA TÜK Lastekliinik (Dr Peet, Dr Heilman).
- Tänan oma lähedasi kannatlikkuse, toetuse ja mõistmise eest magistriõpingute jooksul

# Elulugu

## I. Üldandmed

1. **Ees- ja perekonnanimi:** Hanna Sepp
2. **Sünniaeg ja -koht:** 26.11.1992, Põlva
3. **Kodakondsus:** Eesti
4. **E-post:** hanna.sepp@gmail.com
5. **Haridus:**

2017– ...	Tartu Ülikool, rahvatervishoiu magistriõpe
2013–2017	Tartu Tervishoiu Kõrgkool, bioanalüütika, rakenduskõrgharidus
2009–2010	Põlva Ühisgümnaasium
2000–2009	Põlva Keskkool
6. **Keelteoskus:**

eesti keel	emakeel
inglise keel	kesktase
7. **Töökogemus:**

2017 veebruar–...	Spetsialist, Tartu Ülikooli bio- ja siirdemeditiini instituut, immunoloogia õppetool,
2019 veebruar–mai	Praktikant, Maailma Terviseorganisatsioon ( <i>World Health Organization – WHO</i> )
2016 juuli–august	Abilaborant, SA Pärnu Haigla
2015 august	Nooremõde, AS Põlva Haigla
2014 juuli–august	Nooremõde, AS Põlva Haigla

## II. Teaduslik ja arendustegevus

1. Sepp H. „Uriini mikrobioloogilise analüüsi juhend Tartu Tervishoiu Kõrgkooli mikrobioloogia laboris kasutamiseks“ Eesti Bioanalüütikute Ühingu 25. aastapäeva konverents, 11.11.2017; Tartu, Eesti.
2. Osalemine projektis IUT20-43 Diabeedi immuunmehhanismid, spetsialist, 2017–...

## III. Erialane enesetäiendus

1. Osalemine koolitusel „Data Carpentry Workshop“, Elixir Estonia, 19–20.11.2018
2. Osalemine Eesti Bioanalüütikute Ühingu 25. aastapäeva konverentsil, 11.11.2017
3. Osalemine Tartu Ülikooli immunoloogia õppetooli teadusseminaridel.

Kuupäev: 15.05.2019

**Lisa 1. Lapseas diabeedihaige ankeet****EDU diabeediankeet (esmane lapseas haige, 1. tüüpi diabeet)**

	Kuupäev	Patsiendi unikaalne number (täidab labor)
--	---------	--

**Patsiendi andmed**

	Ees- ja perekonnanimi	Isikukood	Elukoht	Telefon
<b>Patsiendi rahvus</b>	<i>vanavanemate rahvuse alusel</i>			
	Emapoolne vanaema		Emapoolne vanaisa	
	Isapoolne vanaema		Isapoolne vanaisa	
<b>1. tüüpi diabeet perekonnas</b>	Ema	Isa	Õde-vend	Lapsed

**Diabeedi anamnees**

Diagnoosimise kuupäev	Sümptomite kestus	Kaalulangus (kg)	Ketonuuria	Ketoatsidoos
	Insuliini päevaannus koju kirjutamisel		C-peptiid paastuseerumis nmol/l (võimalusel määrata stabiilses faasis, nt enne kojuminekut), määramise kuupäev	

**Kaasuvad haigused (võimalusel märkida diagnoosimise aasta)**

<b>Endokriinsed autoimmuunsed</b>	Krooniline türeoidiit	Graves'i haigus	Autoimmuunne türeoidiit	Muu
<b>Mitteendokriinsed autoimmuunsed</b>	Tsöliaakia	Autoimm. maksahaigus	Vitiliigo	Reumaatiline haigus
	Sclerosis multiplex		Muu	
<b>Krooniline pankreatiit</b>	Anamneesis		Võimalus anamneesi ja kl. leiu alusel	

**Muu**

<b>Arsti andmed</b>	Nimi	Töökoht või lühend		Telefon
<b>Saabunud katsutid (täidab labor)</b>	Lisanditeta	EDTA	Na-hepariin	RNA

## Lisa 2. Täiskasvanud diabeedihaige ankeet

### EDU diabeediankeet (esmane haige, 1. tüüpi diabeet)

	<b>Kuupäev</b>	<b>Patsiendi unikaalne number (täidab labor)</b>
--	----------------	--

#### Patsiendi andmed

	Ees- ja perekonnanimi	Isikukood	Elukoht	Telefon
<b>Patsiendi rahvus</b>	<i>vanavanemate rahvuse alusel</i>			
	Emapoolne vanaema		Emapoolne vanaisa	
	Isapoolne vanaema		Isapoolne vanaisa	
<b>1. tüüpi diabeet perekonnas</b>	Ema	Isa	Õde-vend	Lapsed

#### Diabeedi anamnees

Diagnoosimise kuupäev	Sümptomite kestus	Kaalulangus (kg)	Ketonuuria	Ketoatsidoos
Pikkus : Kehakaal: Vööümbermõõt: Puusaümbermõõt	<b>Insuliini manustamise alust. Kuupäev:</b>  <b>Insuliini preparaadid:</b>		C-peptiid paastuseerumis nmol/l <i>(võimalusel määrata stabiilses faasis, nt. enne kojumenekut), määramise kuupäev</i>	
	Insuliini päevaannus verevõtul		HbA1c	

### Lisa 3. Kontrollisikute ankeet

#### EDU ankeet (Kontrollgrupp)

	Kuupäev	Patsiendi unikaalne number (täidab labor)
--	---------	--

#### Patsiendi andmed

	Ees- ja perekonnanimi	Isikukood	Elukoht	Telefon
Patsiendi rahvus	vanavanemate rahvuse alusel			
	Emapoolne vanaema		Emapoolne vanaisa	
	Isapoolne vanaema		Isapoolne vanaisa	
1. tüüpi diabeet perekonnas	Ema	Isa	Õde-vend	Lapsed
KMI =	Kaal	Pikkus		

VERESUHKUR		
------------	--	--

#### Teadaolevad haigused (võimalusel märkida diagnoosimise aasta)

Endokriinsed autoimmuunsed	Krooniline türeoidiit	Graves'i haigus	Autoimmuunne türeoidiit	Muu
Mitteendokriinsed autoimmuunsed	Tsöliaakia	Autoimm. Maksahaigus	Vitiliigo	Reumaatiline haigus
	Sclerosis multiplex		Muu	
Krooniline pankreatiit	Anamneesis		Võimalus anamneesi ja kl. leiu alusel	

#### Muu

HIP (Li-hepariin katsut)				
Saabunud katsutid (täidab labor)	Lisanditeta	EDTA	Na-hepariin	RNA (Tempus)
HbA1c katsut				

## Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Hanna Sepp

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose „I tüüpi diabeediga seotud autoantikehad, geneetilised ja keskkondlikud riskitegurid“, mille juhendajad on Raivo Uibo ja Heti Pisarev, reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
2. Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 3.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
3. Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
4. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Hanna Sepp

15.05.2019